

50376
1995
11

gen 20103749

50376
1995
11

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

Année 1995

N° d'ordre

THESE

présentée pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN CHIMIE

spécialité : CHIMIE ORGANIQUE ET MACROMOLECULAIRE

par

Irinel Adriana BADEA

SYNTHESE ET PROPRIETES COMPLEXANTES DE NOUVEAUX INHIBITEURS POTENTIELS DES LIPOXYGENASES

Soutenue le 21 Fevrier devant la commission d'examen

Président : Professeur Luminita VLADESCU

Rapporteurs Professeur Michel LHERMITTE
Professeur Gheorghe SURPATEANU

Examineurs Professeur Alain LABLACHE-COMBIER
Professeur Guy NOWOGROCKI
Professeur Jean-Pierre CATTEAU



Nous vivons des myriades des secondes et pourtant, il n'y a eu a jamais qu'une, une seule, qui met en ébullition tout notre monde intérieur — seconde magique, invisible, intangible, imperceptible — mystère que n'est vécu qu'une seule fois. Aucune algèbre de l'esprit ne peut la calculer. Aucune alchimie du pressentiment ne peut la deviner et l'instinct que l'on a de soi le saisit rarement.

Stefan Zweig

REMERCIEMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Chimie Organique-Physique de l'Université LILLE I, dirigé par Monsieur le Professeur Alain LABLACHE-COMBIER, directeur de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille, *Professeur Honoris Causa de l'Université de BUCAREST*. Je le prie de trouver ici le témoignage de ma profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail et pour son soutien durant tout mon séjour en France.

Monsieur Jean-Pierre CATTEAU, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de LILLE m'a confié le sujet de ce travail. Je lui exprime ici tous mes remerciements pour sa confiance, ses conseils compétents, sa patience à m'écouter et l'aide constante qu'il m'a prodiguée tout au long de mon travail de thèse.

Madame Luminita VLADESCU, Professeur à l'Université de BUCAREST a bien voulu présider ce Jury. Qu'elle trouve ici l'expression de mes profonds remerciements. Sans elle, mes premiers pas dans le monde mystérieux de la recherche n'auraient pu rester qu'un tendre souvenir.

Monsieur Michel LHERMITTE, Professeur à l'Université LILLE II

et

Monsieur Gheorghe SURPATEANU, Professeur à l'Université de IASI

ont su trouver le temps d'analyser le contenu de ce mémoire. Je tiens à leur exprimer ma sincère gratitude pour leurs observations critiques et leurs conseils pertinents, qui m'ont beaucoup aidée à parfaire cette thèse.

Je tiens encore à remercier Monsieur Guy NOWOGROCKI, Professeur à l'Université d'AMIENS qui a bien voulu juger ce travail et y apporter toutes ses compétences de chimiste inorganicien.

Monsieur Philippe COTELLE, Professeur

Madame Nicole COTELLE, Maître de Conférences

Monsieur Jean -Luc BERNIER, Professeur

ont toujours trouvé une réponse à ma question de chaque minute : "Pourquoi?"

Je les remercie tous.

A tous mes amis français, belges ou d'ailleurs, que j'ai connu durant ces quatre dernières années et qui ont fait de mon séjour en France une tranche de vie inoubliable : Annie, Alain, Sylvie, Georges, Cécile, Jean-Luc, Jo-Jo, Cathy et Ivan, Pierre, Axel, Azelio, Marc, Hélène, Patrice, Eric, Stephanie, Anne, Vincent, Sylvain, Fabrice, Charlotte, Stephane,....

Je remercie Madame Sainleger et Mireille pour tout leur aide et pour leur sourire de chaque jour.

Je remercie Monsieur Gerard POUILLARD, Maître de Conférences à l'E.N.S.C. de Lille, pour son aide dans la réalisation des spectres UV-visibles.

A toute l'équipe du C.R.O.U.S. de LILLE qui a veillé sur moi et avec laquelle j'ai connu le charme discret de la France, mes très sincères remerciements.

A Monsieur DUHAMEL, Attaché Culturel auprès de l'Ambassade de France en Roumanie, sans lequel ce travail n'aurait pu pas commencer ni s'achever. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.

Table des matières

INTRODUCTION

CHAPITRE I *Synthèse de nouveaux produits intégrant le motif de l'acide caféïque et le groupement prényle, inhibiteurs potentiels des lipoxygénases*

Réactions sur l'acide caféïque	26
Réactions sur des précurseurs de l'acide caféïque	34
Réactions sur des composés carbonylés	39
Synthèse d'acides cinnamiques	44
Synthèse des acides cinnamiques intégrant le motif chromène	46
Conclusion	50
Position du problème et stratégie d'analyse	51
Chromatographie en phase liquide	52
Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire	55
Spectrométrie IR	60
Spectrométrie de masse	61
Partie expérimentale	62
Références bibliographiques	75

CHAPITRE II *Caractérisation analytique des nouveaux composés synthétisés*

Relation structure-activité	76
Spectrométrie d'absorption UV-VISIBLE	81
Détermination du pK_a	103
Voltammétrie cyclique	114
Comportement du PDC à l'échange ionique	118
Références bibliographiques	122

CHAPITRE III *Interactions entre les dérivés synthétisés et les cations métalliques*

Etude par spectrométrie UV-VISIBLE de l'interaction PDC - Fe(III)	124
Comportement à l'échange ionique	154
Etude de l'interaction de PDC avec d'autres cations d'intérêt biologique	157
Etude RPE	166
Etude de l'interaction du Fe(III) avec d'autres produits synthétisés	174
Références bibliographiques	188

CONCLUSIONS

INTRODUCTION

La maladie cardio-vasculaire qui regroupe l'athérosclérose, l'artérite des membres inférieurs et les ischémies (cardiaque, pulmonaire, cérébrale, intestinale) est actuellement une pathologie majeure étant responsable d'environ 50% des décès du monde industrialisé.

L'événement primaire dans l'athérogénèse est une blessure des cellules endothéliales de l'intima (première couche composant les artères musculaires); le développement de la plaque mature en est le stade ultime.

En terme de réaction biochimique, la blessure initiale de l'intima peut être causée mécaniquement mais les agents responsables semblent être plutôt des agents chimiques, en particulier des lipides peroxydés. Puis des facteurs agrégeants plaquettaires provenant de la cascade arachidonique, comme le tromboxane A₂ ainsi que des agents chimioattracteurs comme le leucotriène B₄ sont aussi impliqués.

Parmi les approches thérapeutiques récentes de cette maladie, les médicaments s'opposant aux phénomènes d'oxydation¹ ou intervenant dans la dégradation de l'acide arachidonique² font l'objet d'intenses recherches.

L'acide arachidonique, un constituant habituel des phospholipides de la membrane cellulaire, est libéré sous l'action de la phospholipase A₂. Il est un précurseur important pour une large famille ayant un important effet physiologique³ (Schéma 1).

Cet acide sert de substrat à la *cycloxygénase* (Schéma 2). Ce chemin conduit aux prostaglandines et aux thromboxanes. L'aspirine est à l'heure actuelle un inhibiteur sélectif de la voie de la cycloxygénase. La dégradation par la voie des *lipoxygénases* (Schéma 3) met en évidence la formation des leucotriènes et des lipoxines.

Les molécules issues de la cascade d'acide arachidonique sont chargées d'une panoplie de fonction : stimulation et contraction des muscles lisses; régulation de la biosynthèse des stéroïdes; inhibition de la sécrétion gastrique; inhibition de l'agrégation plaquettaire; stimulation de l'agrégation plaquettaire; régulation de la transmission nerveuse; sensibilisation à la douleur; médiation de la réponse inflammatoire. On estime qu'une espèce médicamenteuse sur trois agit sur un système qui est la cible d'une modulation par les prostaglandines.

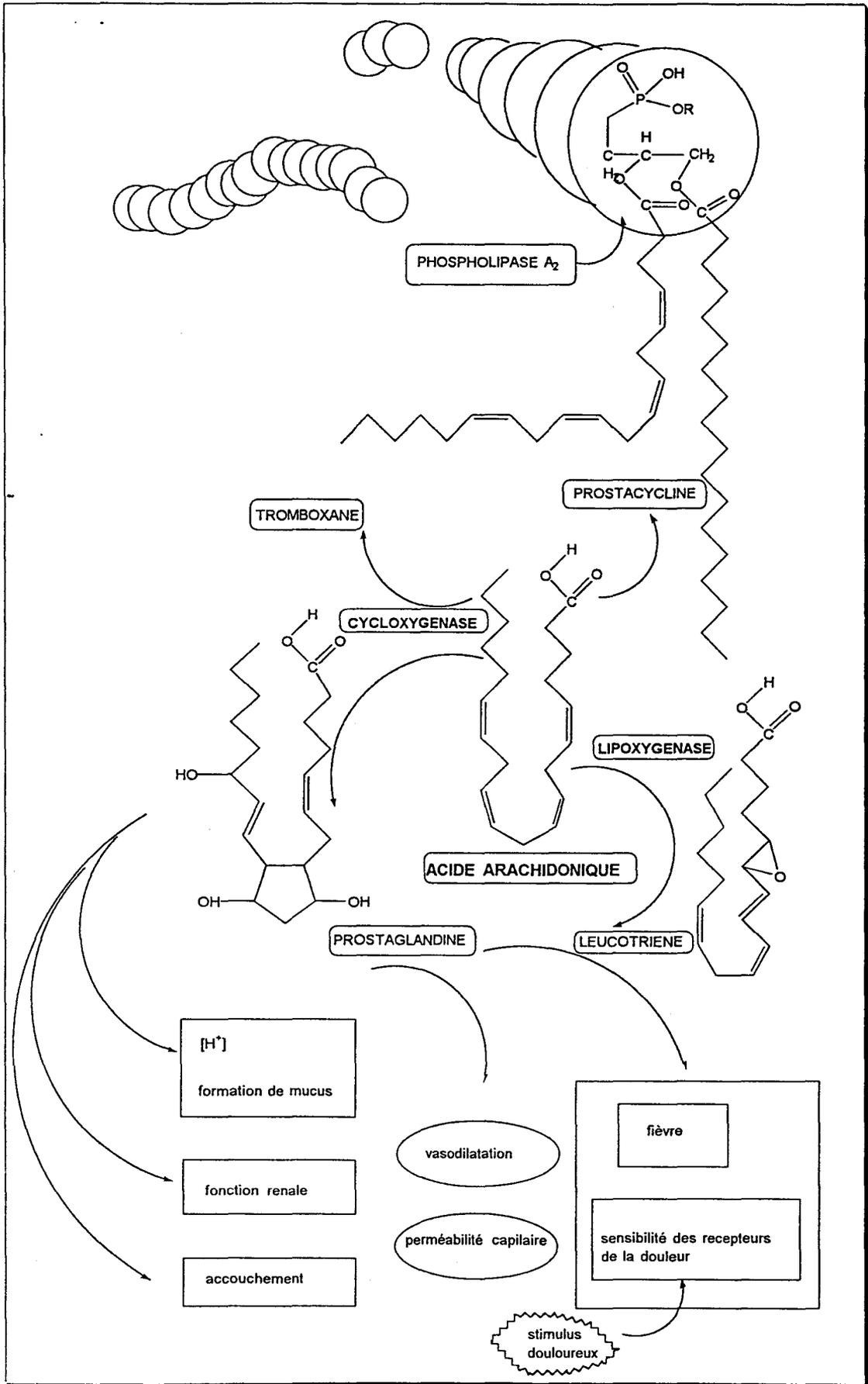


Schéma 1 Cascade de l'acide arachidonique

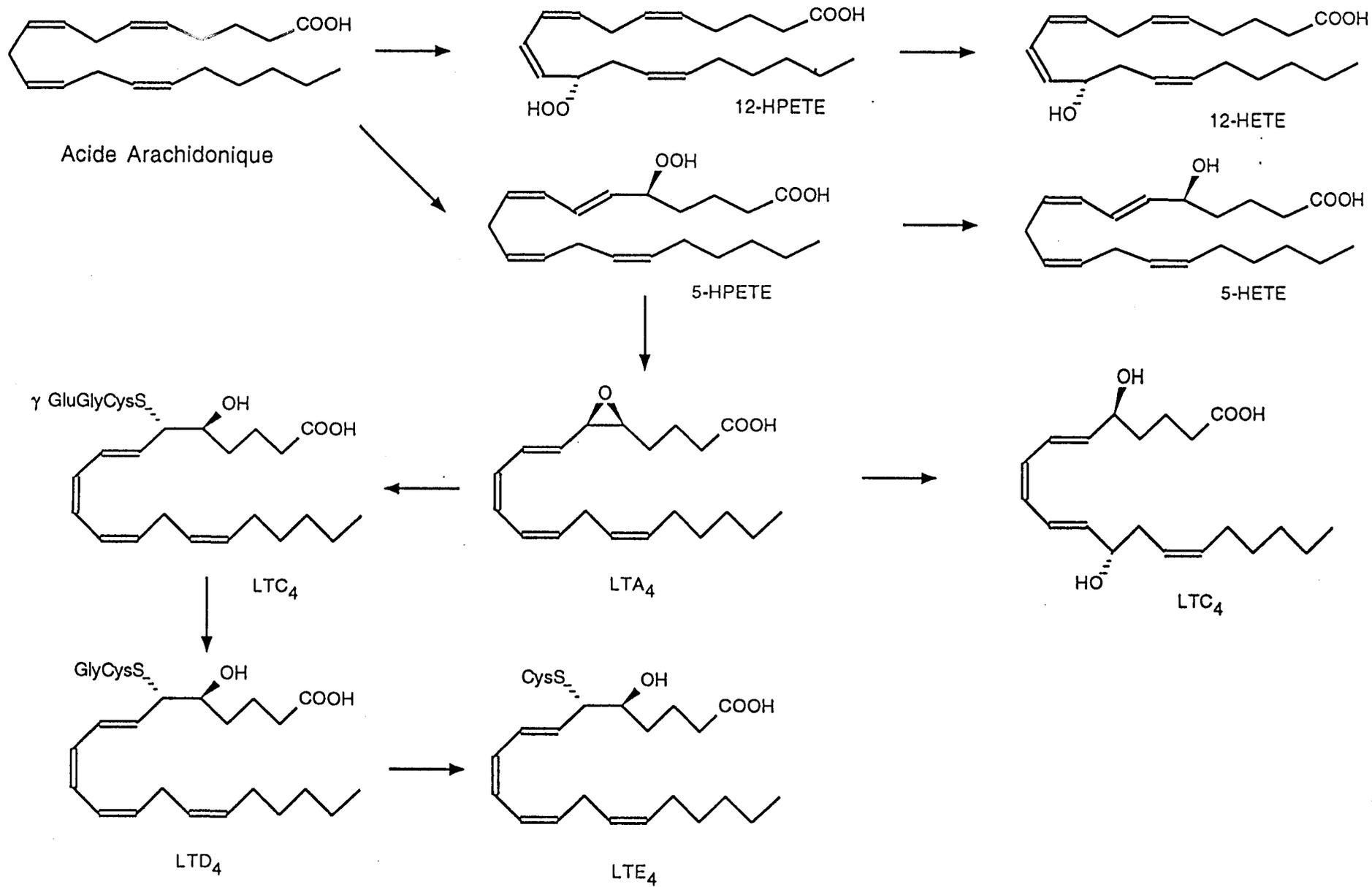


Schéma 3 Dégradation de l'acide arachidonique par la voie des lipoxygénases

LES LIPOXYGENASES

Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la dégradation de l'acide arachidonique par la voie des *lipoxygénases*.

Les lipoxygénases sont des enzymes ubiquitaires du monde animal et végétal; elles ont été découvertes dans la farine de froment et dans les graines des plantes; la lipoxygénase de graine de soja, décrite pour la première fois en 1932 a été purifiée et cristallisée en 1947. Les lipoxygénases d'origine animale n'ont été découvertes que 30 ans plus tard : la 12-lipoxygénase en 1974 , la 15-lipoxygénase en 1975 et la 5-lipoxygénase en 1976⁴ Le nom de chaque lipoxygénase est attribué en fonction de la position de la double liaison de l'acide arachidonique transformée en hydroperoxyde.

Les lipoxygénases sont des enzymes non-hémiques impliquées dans le métabolisme de l'acide arachidonique au moyen de l'oxygène moléculaire.

La **5-lipoxygénase** est décrite comme une enzyme ayant dans son site catalytique un ion ferreux à l'état "latent". Après l'activation par les hydroperoxydes, l'ATP et le Ca^{2+} , le fer du site actif passe dans un degré d'oxydation supérieur : Fe^{3+} . C'est alors que l'enzyme devient active. Cette activation est corrélée avec un changement dans le comportement de l'enzyme. Elle passe d'une conformation hydrophile à une conformation hydrophobe, qui lui permet d'atteindre plus facilement les parois de la cellule où elle va rencontrer l'acide arachidonique.

Sur la base de données biochimiques et cristallographiques, on admet pour les lipoxygénases le mécanisme d'action suivant (Schéma 4). Il fait intervenir un transfert d'électron par un atome de fer (III) non-hémique et un transfert de proton par une base (noyau imidazole d'une histidine du site actif). L'enzyme transforme une unité 1,4 *cis*-diène en 1,3 *cis* *trans*-diène-5-hydroperoxyde.

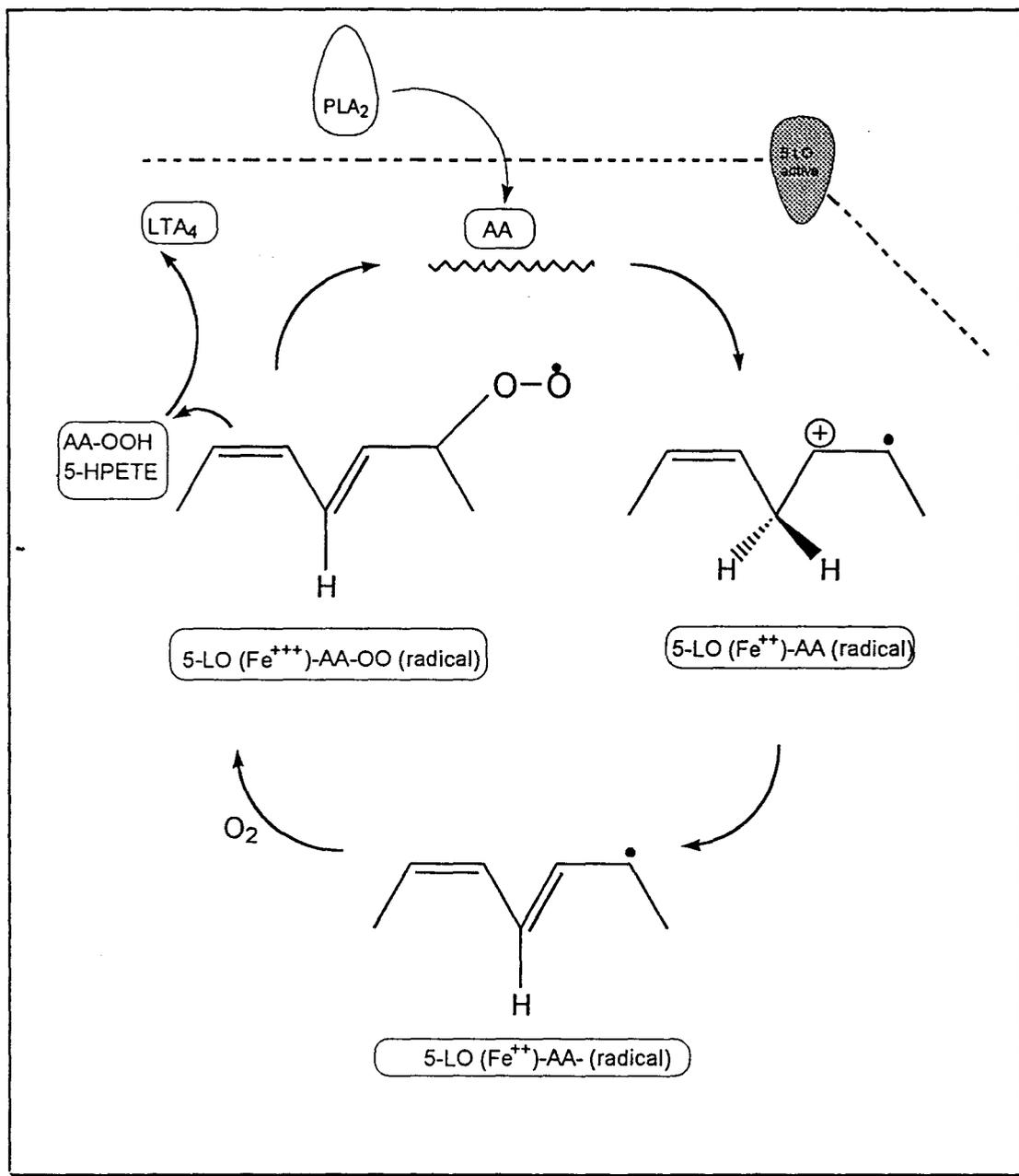


Schéma 4. Mécanisme d'action de la 5-lipoxygénase

Des données obtenues par des études cristallographiques⁵ sur la 15-lipoxygénase (Figure 1) ou par l'incorporation de l'isotope ⁵⁷Fe dans le site actif de la 15-lipoxygénase montrent qu'il s'agit bien d'un Fe²⁺ et que l'activité est due à une réaction rédox Fe²⁺/Fe³⁺, dont le potentiel de réduction⁶ du Fe³⁺ a été estimé à une valeur de ~ +0,6 V.

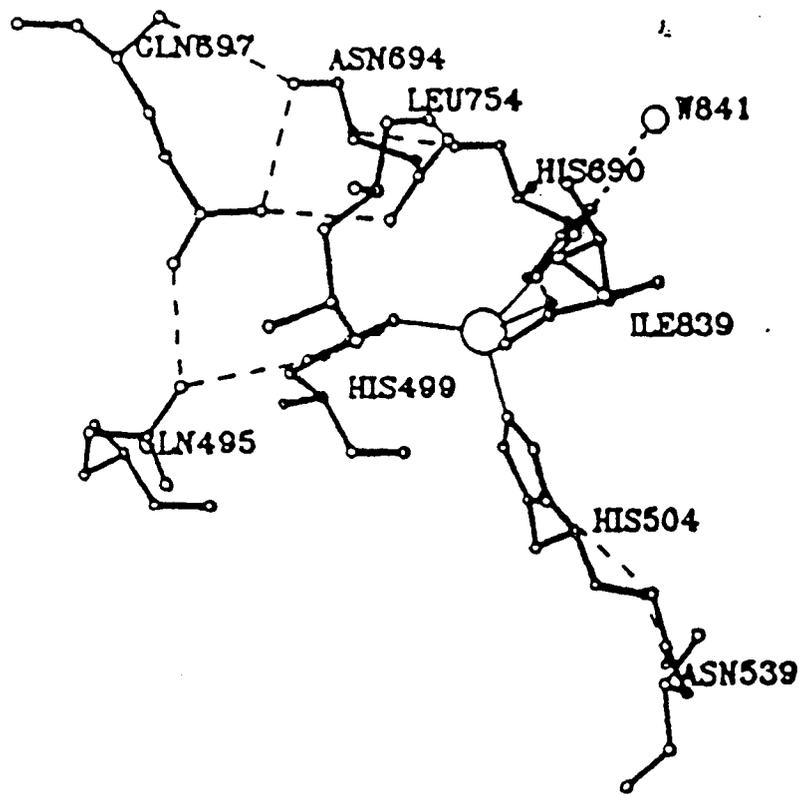


Figure 1. Structure du site actif de la 15 lipoxygénase⁵

Aujourd'hui on admet que la 5-lipoxygénase est une enzyme non-hémique. La nature de l'atome du fer dans le site actif demeure toutefois incertaine

La recherche d'inhibiteurs des lipoxygénases répond à plusieurs objectifs:

- ◆ *étudier et comprendre le fonctionnement et le mécanisme d'action des lipoxygénases;*
- ◆ *mettre en évidence, aussi bien in vitro qu'in vivo, des activités pharmaceutiques des éicosanoïdes issus de la voie des lipoxygénases;*
- ◆ *obtenir une nouvelle famille thérapeutique d'anti-inflammatoires actifs de façon spécifique sur la synthèse des leucotriènes, par inhibition de l'enzyme-clé, responsable de leur production: la 5-lipoxygénase.*

La liste de ces inhibiteurs est aussi longue que variée et leurs mécanismes d'action ne sont pas toujours connus. Habituellement, les principaux inhibiteurs se répartissent en trois grandes classes⁷:

↳ **LES CHELATEURS DU FER**

↳ **LES AGENTS ANTIOXYDANTS**

↳ **LES ANALOGUES DE SUBSTRATS**

LES AGENTS CHELATEURS

Flavonoïdes, catéchols et dérivés

Il s'agit de composés phénoliques polyhydroxylés le plus souvent d'origine végétale, possédant une activité inhibitrice des lipoxygénases et de la cycloxygénase, selon des mécanismes divers dont celui de la chélation de l'atome de fer non-hémique des lipoxygénases.

Les flavonoïdes

Sont des pigments jaunes, essentiellement d'origine végétale existant sous forme d'hétérosides (Figure 2)

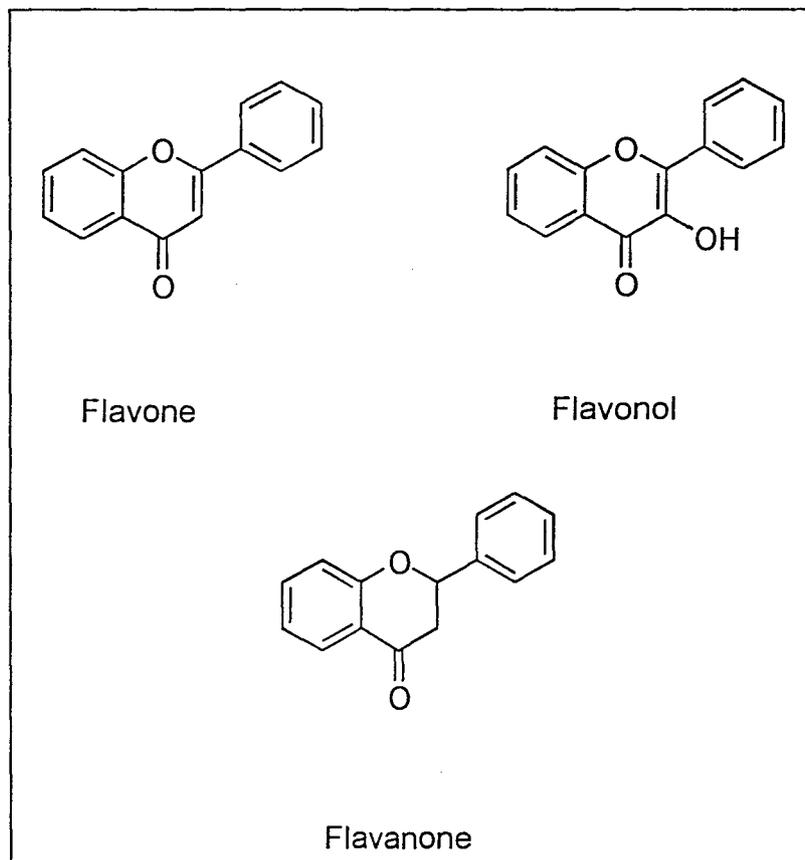
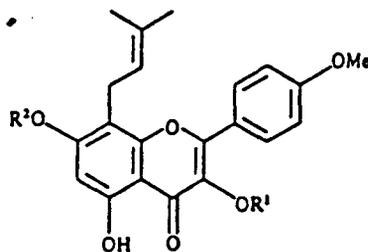
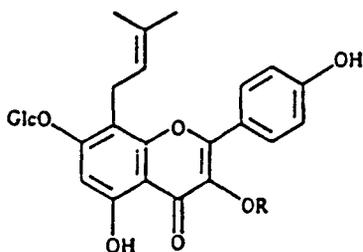


Figure 2.

De très nombreuses publications rapportent l'existence d'une activité inhibitrice des lipoxygénases par ces composés⁸. Le mécanisme d'action des flavonoïdes est complexe et semble lié, d'une part à la capacité des noyaux catéchols à chélater le fer du site actif de l'enzyme et d'autre part, à une activité antioxydante.

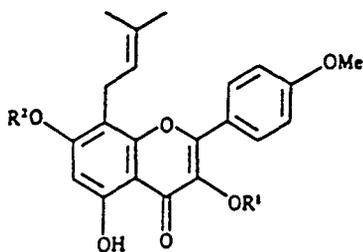
Ces dernières années, des nombreux travaux visant à comprendre l'activité biologique des certaines plantes médicinales (surtout leurs applications dans la médecine traditionnelle chinoise) ont montré l'importance des dérivés prénylés des flavonoïdes.

Les classes de flavonoïdes les plus rencontrées sont présentées comme suit:

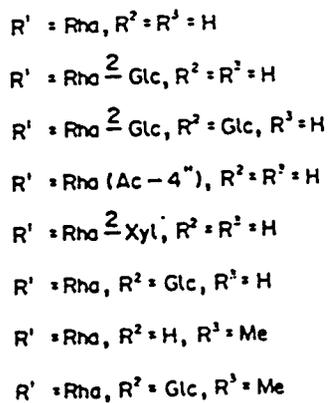
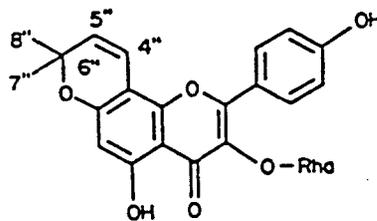
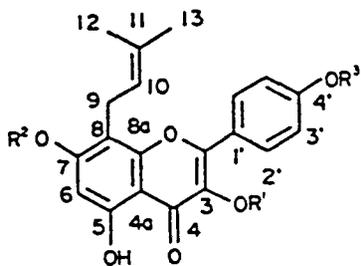
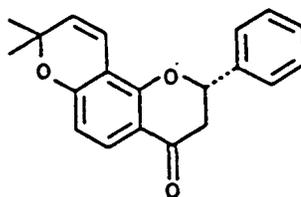
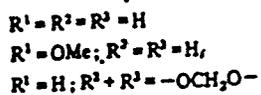
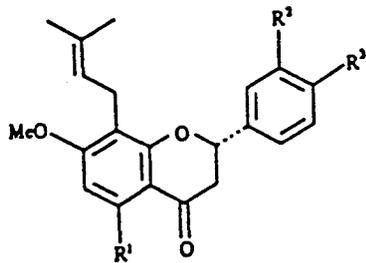
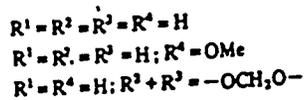
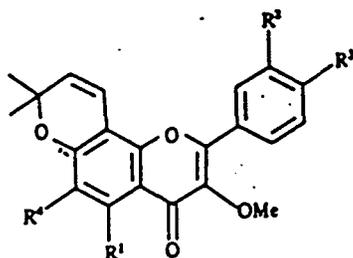
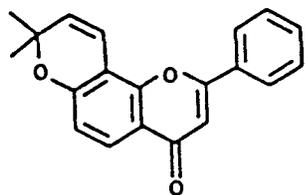


$R = \text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Glc}$ (diphyllaside A)
 $R = \text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Rha}$ (diphyllaside B)
 $R = \text{Rha}$ (epimedin A)
 $R = \text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Xyl}$ (epimedin E)

$R^1 = R^2 = \text{H}$ (anhydroicaritin)
 $R^1 = \text{Rha}, R^2 = \text{Glc}$ (icariin)
 $R^1 = \text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Rha}, R^2 = \text{Glc}$ (epimedin C)



R^1	R^2	
$\text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Glc}$	H	(sagittoside A)
$\text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Xyl}$	H	(sagittoside B)
$\text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Glc}$	H	(sagittoside C)
$\begin{array}{c} \\ \text{Ac} \end{array}$		
$\text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Glc}$	Glc	(epimedin A)
$\text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Xyl}$	Glc	(epimedin B)
$\text{Rha} \xrightarrow{2} \text{Rha}$	Glc	(epimedin C)
H	Glc	(icarisid I)
Rha	H	(icarisid II)
Rha	Glc	(icariin)



Les catéchols

Le noyau catéchol est un dérivé polyhydroxylé dont la polymérisation conduit aux tanins condensés. Il y a dans la littérature de nombreuses références signalant le rôle inhibiteur de ces composés.

Spapen et ses collaborateurs⁹ ont montré la capacité des nitrocatéchols d'inhiber la 15-lipoxygénase de Soja. Il s'agit d'inhibiteurs compétitifs ayant une forte affinité pour l'enzyme. Le mécanisme qu'ils proposent est le suivant: les catéchols inhibent l'enzyme par chélation du fer non-hémique à l'état ferrique avec formation d'un complexe équimoléculaire; la vitesse de formation du complexe est lente car cette réaction nécessite la formation, par déprotonation, d'un dianion "cat²⁻", responsable de la formation du complexe.

Dans certains cas, lorsque le potentiel rédox du couple catéchol oxydé/réduit est supérieur à 0,6 V (pH compris entre 7 à 9), la réaction de complexation s'accompagne de la réduction du fer à l'état ferreux, accroissant ainsi leur activité inhibitrice. La chélation s'accompagne également d'une modification structurale du site ferreux. Cette déformation dépend de la nature électronégative des substituants du noyau catéchol.

L'acide caféïque

L'acide caféïque (Figure 3) est un composé phénolique, polyhydroxylé, associé au groupe des catéchols et des flavones.

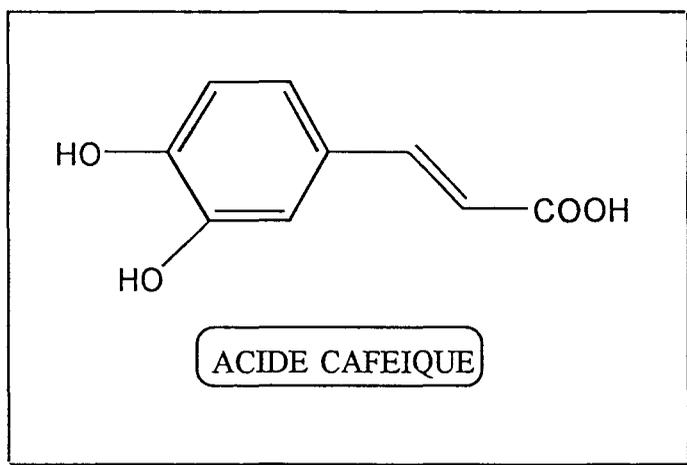
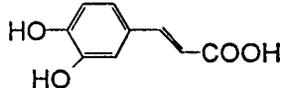
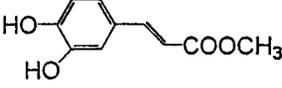
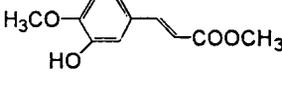
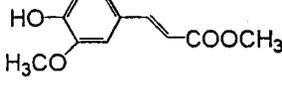
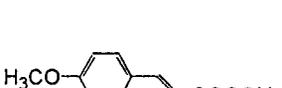


Figure 3.

Koshihara et ses collaborateurs¹⁰ ont montré que ce produit est un inhibiteur sélectif de la 5-lipoxygénase de mastocytes. De plus, son ester méthylique a un pouvoir inhibiteur plus grand que l'acide caféïque lui même. Le Tableau 1 rassemble les résultats issus des études réalisés par Koshihara.

Tableau 1.

INHIBITEUR	STRUCTURE	CONCENTRATION	ACTIVITE DE
		(μM)	L'ENZYME (%)
-	-	-	100
<i>Acide caféïque</i>		3	52
		100	4
<i>Ester méthylique de l'acide caféïque</i>		3	19
		100	4
<i>Ester méthylique de l'acide p-méthyl caféïque</i>		3	100
		100	79
<i>Ester méthylique de l'acide m-méthyl caféïque</i>		3	100
		100	7
<i>Ester méthylique de l'acide m,p-diméthyl caféïque</i>		3	102
		100	78

Kimura et son équipe¹¹ confirment ces résultats et les étendent aux tanins caféïques, comme l'acide rosmarinique (Figure 4).

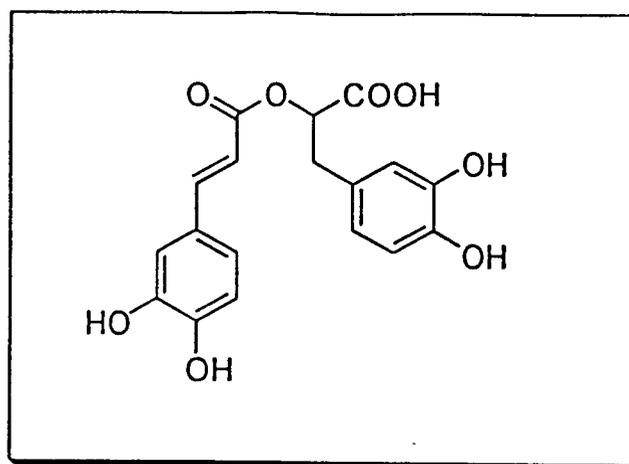


Figure 4. Acide rosmarinique

~ Sigiura et ses collaborateurs¹² utilisent les travaux de Koshihara¹⁰ pour étudier l'activité inhibitrice d'autres dérivés de l'acide caféïque.

L'activité de ces composés dépend de la présence de trois facteurs:

- une chaîne latérale hydrophobe;
- un site hydrophobe de fixation;
- deux fonctions hydroxylées sur le cycle benzénique.

LES ANTIOXYDANTS

Les pyrazolones: BW 755 C et phénidone

Le BW 755 C ou 3-amino-1-(3-trifluoro méthyl phényl)-pyrazoline et la phénidone (Figure 5) sont des inhibiteurs de référence des lipoxygénases et de la cyclooxygénase¹³, dont le mode d'action est encore mal connu.

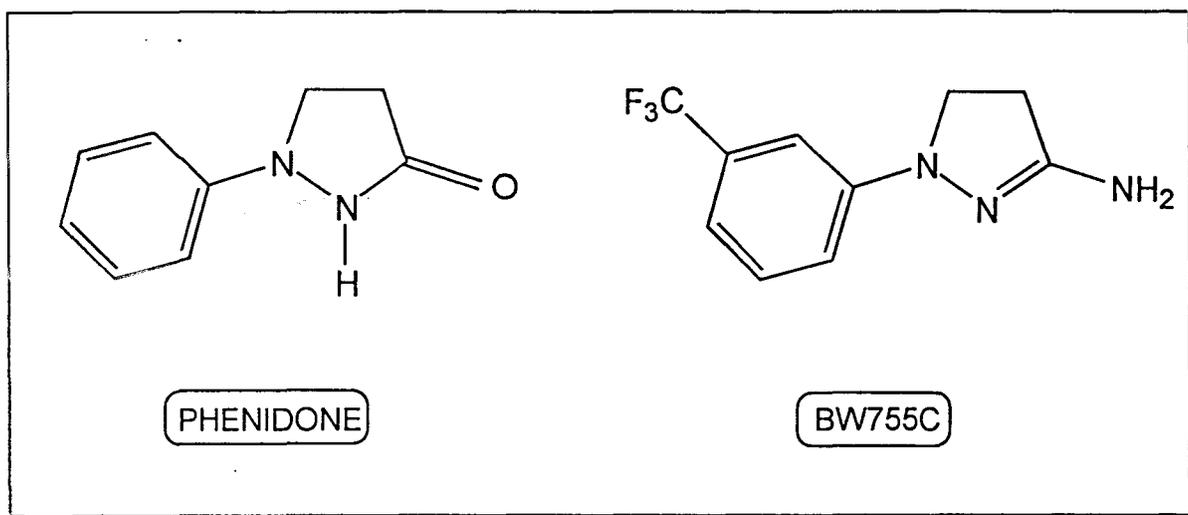


Figure 5.

Cucurou et ses collaborateurs¹³ ont proposé un mécanisme d'action faisant intervenir la formation de radicaux libres à partir de ces composés par action des lipoxygénases, résultats confirmés en RPE par Van Der Zee et son équipe¹⁴. Dans un premier temps, il y a libération d'un **radical oxydé** ; puis l'oxydation est catalysée par la lipoxygénase dont l'atome de fer se trouve réduit à l'état ferreux l'enzyme étant alors inhibée.

Le **radical oxydé** présente plusieurs destinées possibles:

- soit une dismutation spontanée en phénidone et en déhydrophénidone;
- soit une oxydation directe par l'oxygène avec formation de déhydrophénidone et d'un radical superoxyde (lui-même inhibiteur des lipoxygénases);
- en présence d'une molécule d'enzyme encore active, ce radical pouvait s'oxyder sous forme d'ion immonium ; cette forme se fixe d'une façon covalente et induit ainsi une inhibition irréversible.

Hlasta et ses collaborateurs¹⁵ ont étudié l'activité inhibitrice d'une série de 1-phényl-3-pyrrolidinones obtenus par synthèse, sur l'activité de la 5-lipoxygénase *in vitro* et *in vivo* et le mécanisme qu'ils proposent est semblable à celui de Cucurou¹³.

Lehmann et ses collaborateurs¹⁶ ont étudié une variété de composés organiques, parmi lesquels: *des amines aromatiques, des dérivés substitués de 1-phényl-3-méthyl-2-pyrazolone ainsi que des dérivés phénoliques* (Figure 6). Ils proposent aussi un mécanisme d'action de ces inhibiteurs comme celui décrit précédemment¹³.

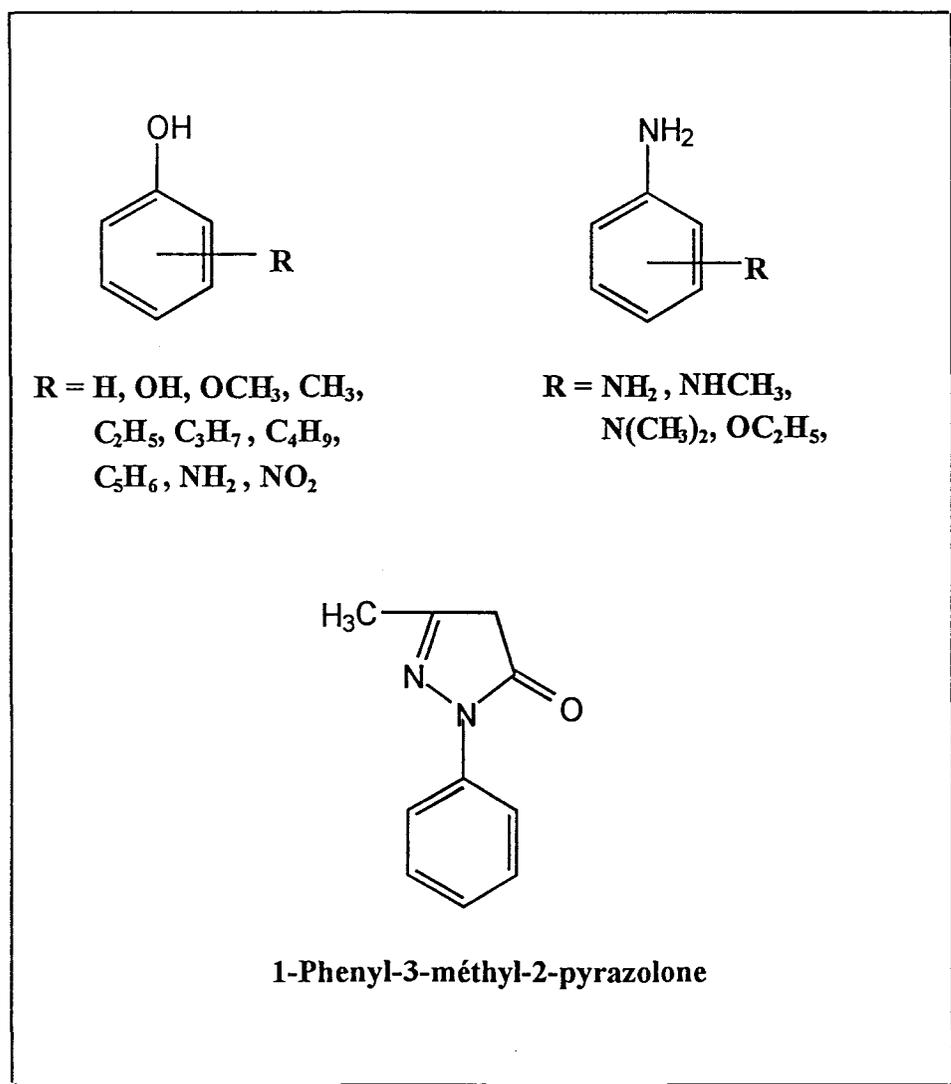


Figure 6.

LES ANALOGUES DE SUBSTRATS

Un certain nombre d'acides gras insaturés sont des inhibiteurs compétitifs des lipoxygénases.

Kühn et ses collaborateurs¹⁷ ont montré que les acides gras acétyléniques tels que l'ETYA (Figure 7.) inhibait la lipoxygénase de réticulocytes humains et la 15-lipoxygénase. La structure spatiale linéaire de l'ETYA ralentit l'activité de l'enzyme, sans l'inhiber.

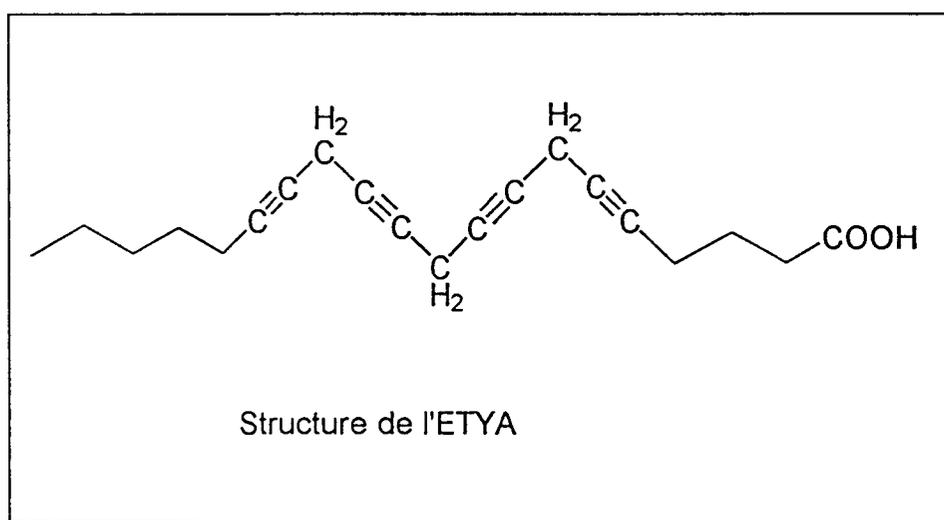


Figure 7.

Les analogues supérieurs de l'acide arachidonique sont également de bons inhibiteurs de la synthèse des leucotriènes in vivo. Il s'agit notamment de l'acide eicosapentaénoïque¹⁸ (EPA); mais ce composé est lui-même substrat de la 5-lipoxygénase conduisant à la synthèse des leucotriène de la série 5.

Le grand nombre des produits rapportés comme étant des nouveaux inhibiteurs des lipoxygénases limite notre regard seulement aux plus importants et plus connus par leur sélectivité.

Il est intéressant de remarquer que des propriétés antioxydantes ont été mises en évidence dans une série d'hydroquinones prénylées¹⁹ (Figure 8.) et dans des sigmoïdines naturelles mono et diprénylées possédant une partie catéchol²⁰ (Figure 9.). De plus, l'acide salvianolique (Figure 10.), produit extrait de racines de sauge, qui possède plusieurs motifs catéchol (notamment une partie acide 2-(3,4 dihydrohystyryl)caféïque) est un excellent protecteur contre la peroxydation membranaire²¹.

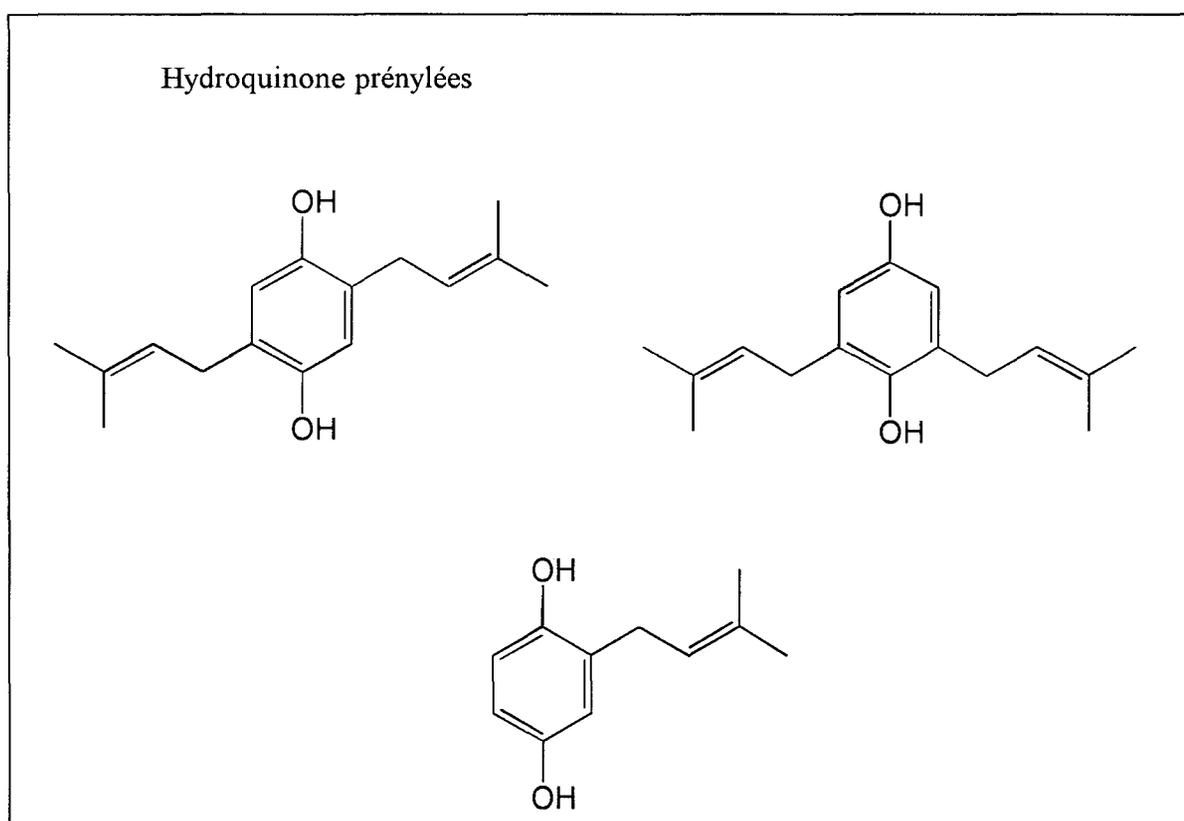


Figure 8.

Sigmoidines naturelles

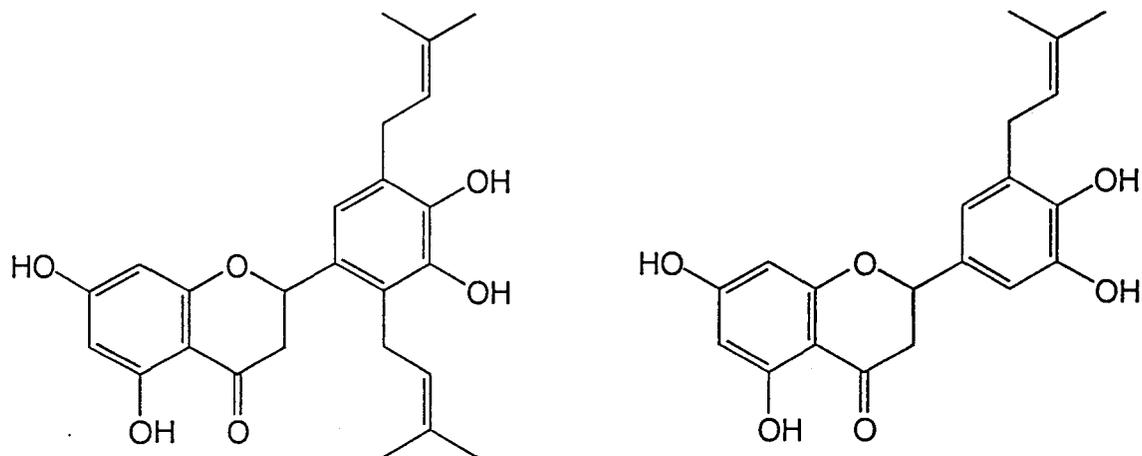


Figure 9.

Acide salvianolique

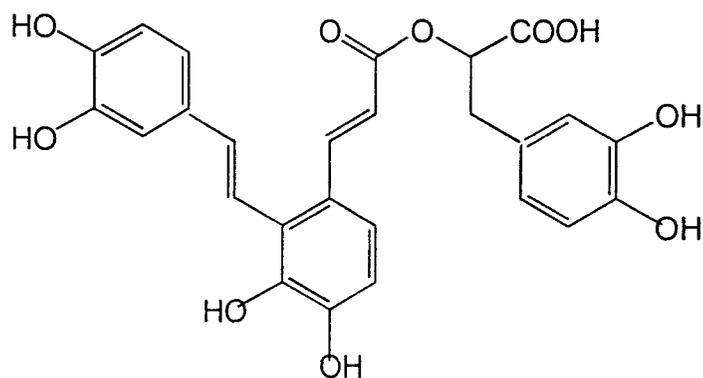


Figure 10.

Compte tenu de tous ces éléments il nous a paru intéressant de tenter la *synthèse de dérivés prénylés de l'acide caféïque*.

On retrouvera en effet dans ces molécules des fonctions capables d'interagir avec le fer du site actif de la 5-lipoxygénase et un groupement carboxylique qui va reconnaître un site anionique de l'enzyme. Ce site anionique reconnaît habituellement la fonction carboxylique de l'acide arachidonique.

L'amélioration par rapport à l'acide caféïque consiste à introduire un substituant prényle, afin d'augmenter la lipophilie de la molécule.

De tels composés pourraient inhiber l'enzyme selon le schéma suivant et avoir simultanément une action antioxydante (Figure 11).

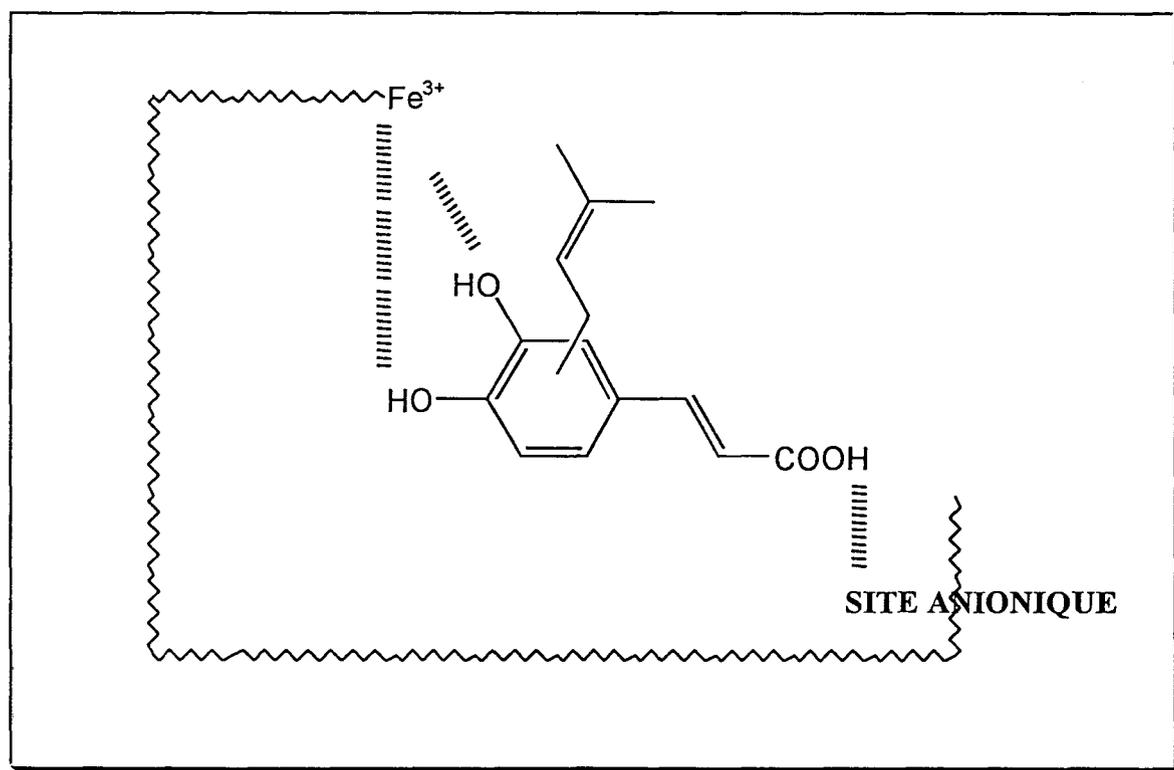


Figure 11 Mécanisme d'action de l'acide caféïque prénylé, potentiel inhibiteur des lipoxygénases

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Halliwell, B.; Gutteridge, S.M.C. *Trends Biochem. Sci.* **1986**, 11, 372.
2. Ford-Hutchinson, A.W. *Fed. Proc.* **1985**, 44, 25.
3. Lüllmann, H.; Mohr, K.; Ziegler, A. *Atlas de poche de pharmacologie*, Flammarion Médecine-Sciences édit., Paris **1991**.
4. Hammarström, S. *Antioxidants, Free Radicals and Polyunsaturated Fatty Acids in Biology and Medicine* édit., International Food Science Centre A/S, Lystrup **1993**.
5. Boyington, J.F., Gaftney, B.J., Amzel, L.B. *Science* **1993**, 260, 1482.
6. Musser, J.H.; Kreft, F.A. *Journal of Medicinal Chemistry* **1992**, 35, 14.
7. Battu, S.; Beneytout, J.L. *Regard sur la Biochimie* **1992**, 4, 67.
8. Ferrandiz, M.L.; Alkaraz, M. *J. Agents Actions* **1991**, 32, 283.
9. Spapen, L.J.M.; Verhagen, J.; Veldink, G.A.; Vliegthart, J.F.G. *Biochim. Biophys. Acta* **1980**, 617, 132.
10. Koshiara, Y.; Neichi, T.; Murota, S.I.; Lao, A.N.; Fujimoto, Y.; Tatsuno, T. *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, 792, 92.
11. Kimura, Y.; Okuda, H. *J. Nat. Prod.* **1987**, 50, 392.
12. Sigiura, M.; Naito, Y.; Yamaura, Y.; Fukaya, C.; Yokoyama K. *Chem. Pharm.Bull.* **1989**, 37, 1039.
13. Cucurou, C.; Battioni, J.P.; Thang, D.C.; Nam, H.H.; Mansuy, D. *Biochemistry* **1991**, 30, 8964.
14. Van Der Zee, J.; Eling, T.E.; Mason, R.P. *Biochemistry* **1989**, 28, 8363.
15. Hlasta, D.J.; Casey, F.B.; Fergusson, E.W.; Gangell, S.J.; Heimann, M.R.; Jeager, E.P.; Kulling, R.K.; Gordon, R.J. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1560.
16. Lehmann, F.M.; Bretz, N.; Franz, V.; Bruchhaussen, V.F.; Wurm, G. *Bioch. Pharm.* **1989**, 38, 1209.
17. Kuhn, H.; Schewze, T.; Rapoport, S.M. *Adv. Enzymol.* **1986**, 58, 191.
18. Lokesh, B.R.; German, B.; Kinsella, J.R. *Biochim. Biophys. Acta* **1988**, 958, 99.

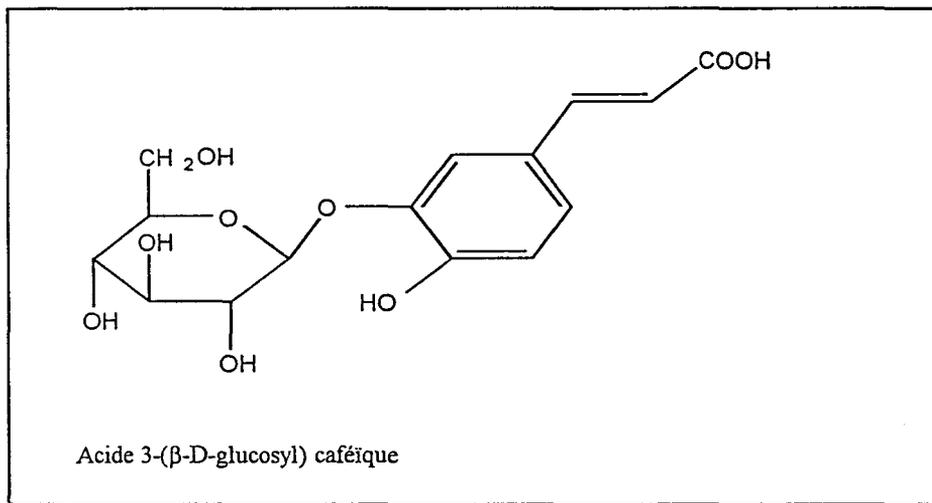
19. Cotelle, N.; Moreau, S.; Bernier, J.L., Catteau, J.P.; Henichard, J.P. *Free Radical Biol. Med.* **1991**, *11*, 63.
20. Cotelle, N.; Bernier, J.L., Catteau, J.P.; Henichard, J.P.; Pesando, D.; *Nat. Prod. Lett.*
21. Liu, G.T.; Zhang, T.M.; Wang, B.E.; Wang Y.W. *Biochem. Pharmacol.* **1992**, *43*, 147.

CHAPITRE I

Synthèse de nouveaux produits intégrant le motif de l'acide caféïque et le groupement prényle, inhibiteurs potentiels des lipoxygénases

L'acide caféïque est issu du métabolisme de la phénylalanine et joue un rôle essentiel dans le monde végétal.

Son activité importante au niveau structurel et fonctionnel est due à la partie diphénolique. De plus il n'est retrouvé que sous forme polymérisée (lignines) qui fait de lui un composé avec des propriétés intéressantes. Nous présentons un exemple d'un tel produit¹ dans la figure suivante:



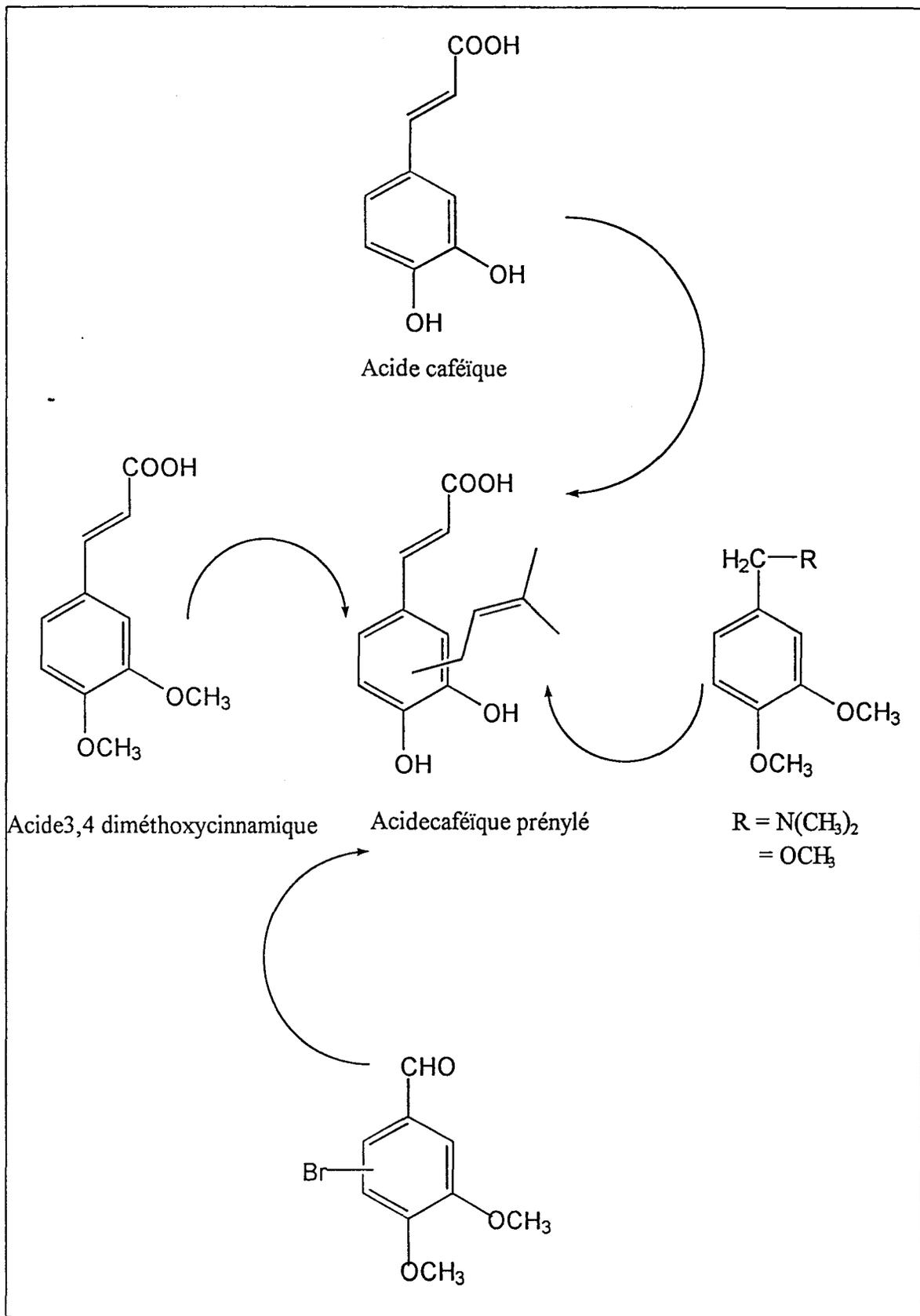
Mis à part la structure catéchol retrouvée sur sa molécule, la fonction cinnamique introduit des changements dans la lipophilie de la molécule facilitant une meilleure solubilité en phase lipidique.

Une molécule intégrant le motif cinnamique et celui catéchol est donc le modèle de départ.

L'introduction du groupement prényle semble apporter une amélioration de la lipophilie de la molécule, faisant de cette nouvelle entité structurale un potentiel inhibiteur de la dégradation de l'acide arachidonique par la voie de la 5-lipoxygénase et d'avoir simultanément une action antioxydante.

Nous avons envisagé les suivantes stratégies de synthèse :

STRETEGIES DE SYNTHESE



REACTIONS SUR L'ACIDE CAFEIQUE

ISOPRENYLATION EN SOLUTION ACIDE

Dans le but de synthétiser des dérivés ayant à la fois le motif de l'acide caféique et de l'isoprène, nous nous sommes intéressés tout d'abord, à la réaction de C-prénylation des phénols.

Les études sur les dérivés phénoliques naturels substitués par des unités C5 ont montré que des tels composés sont issus d'une réaction de biosynthèse, à partir d'une combinaison entre le 3-méthylbut-2-ényl et le phénol. Les structures les plus rencontrées (Figure I.1.) sont celles de 3-méthylbut-2-ényl phénol (1) et de 2,2 diméthylchromène (3), mais aussi celles des dérivés du chromane(2), obtenus soit par l'hydrogénation du chromène (Figure I.1, voie b), soit par une réaction de cyclisation en milieu acide du groupement 3-méthylbut-2-ényl (Figure I.1, voie a).

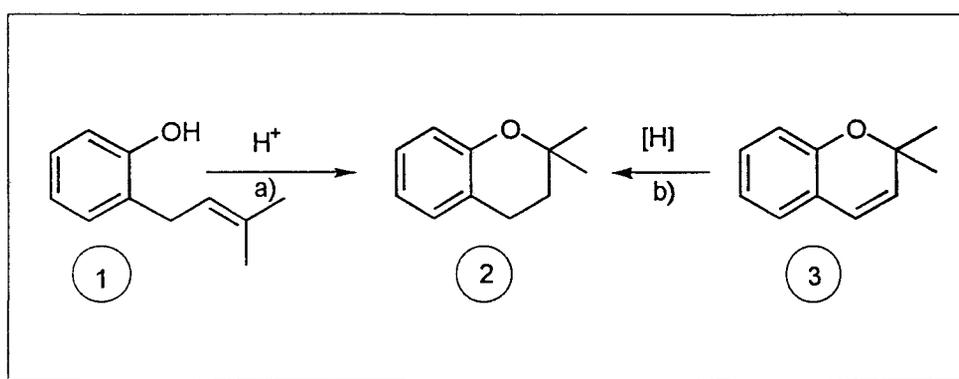


Figure I.1 Dérivés phénoliques naturels

Birch et ses collaborateurs² ont suggéré, pour la première fois, que les produits phénoliques naturels étaient obtenus à la suite d'une réaction de C-prénylation, avec un agent d'alkylation approprié.

Ollis et Sutherland³ ont proposé le mécanisme de la réaction d'alkylation du phénol avec 3-méthylbut-2-ényl pyrophosphate, selon le schéma suivant (Figure I.2) :

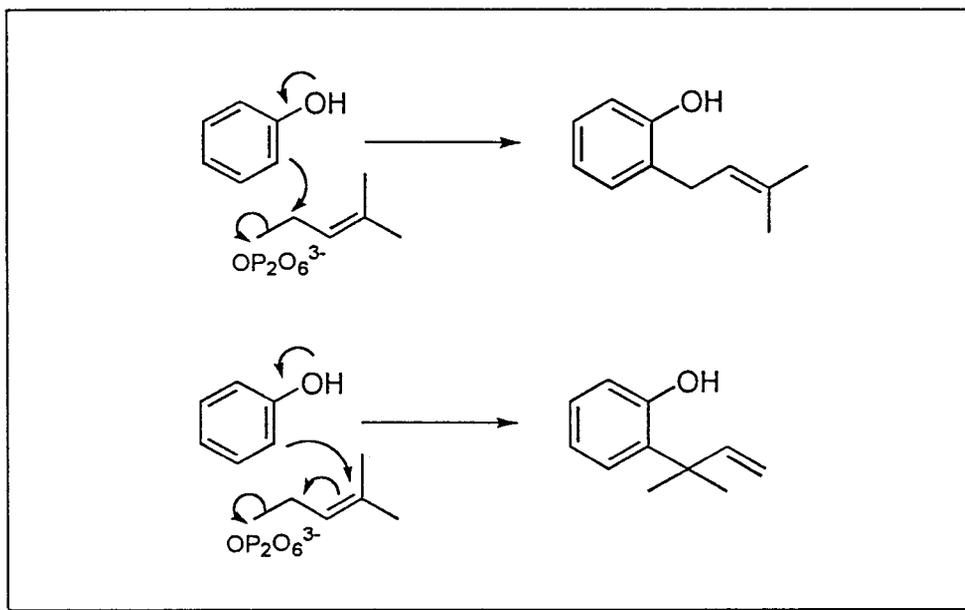


Figure I.2 Réaction d'alkylation du phénol en milieu acide (H_3PO_4)

La réaction de condensation entre le substrat phénolique et un alcool allylique, dans des conditions faiblement acides, peut aussi être un modèle pour expliquer la biosynthèse des produits phénoliques C-alkylés (Figure I.3).

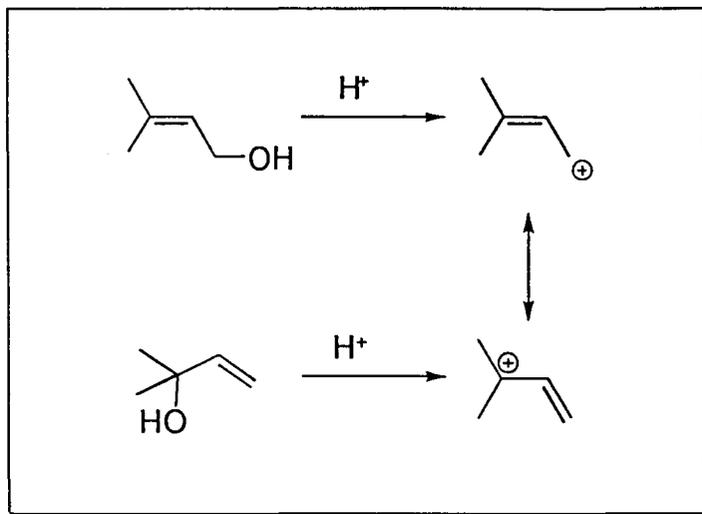


Figure I.3 Réaction d'alkylation du phénol en milieu acide ($HCOOH$)

La première voie de synthèse envisagée à partir du catéchol pouvait être la suivante (Figure I.4) : alkylation du catéchol, formylation puis transformation de la fonction aldéhyde en fonction acide propénoïque

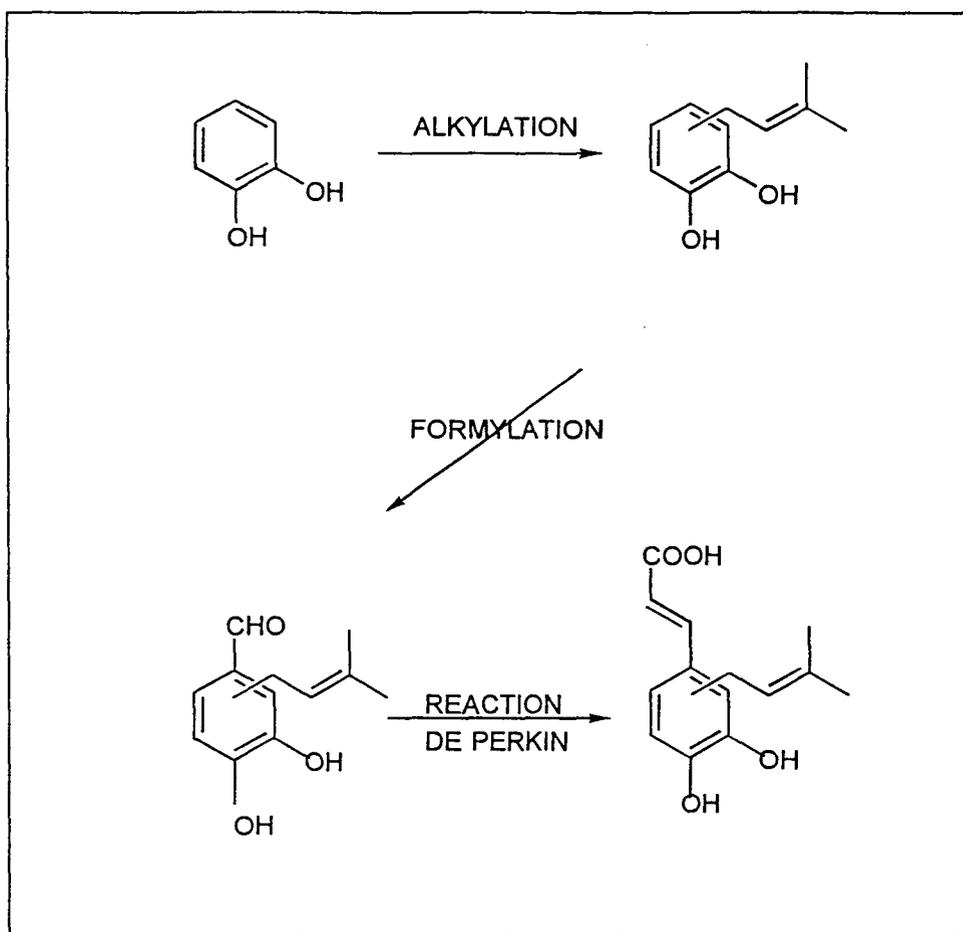


Figure I.4. Voie de synthèse à partir du catéchol

Dans des conditions rigoureuses, une réaction d'alkylation de polyphénols peut être réalisée. Elle conduit à un mélange de produits d'alkylation avec un faible rendement ne permettant pas d'envisager une synthèse multiétape avec des rendements corrects. Par ailleurs, les essais préliminaires ont montré que les conditions de la réaction de formylation ne permettent pas de maintenir l'unité prényle sur le cycle aromatique. Nous avons donc tenté une réaction de C-alkylation directement sur l'acide caféique.

R. Moulyneaux⁴ a fait réagir le pyrogallol, à la température ambiante, avec le 2-méthylbut-3-ène-2-ol, dans une solution d'acide citrique, avec des petites quantités de l'acide ascorbique (pour empêcher l'oxydation du phénol).

Dans les mêmes conditions, l'acide caféique conduit à un mélange des produits difficilement séparables. La spectroscopie RMN du proton nous indique que le produit de départ est majoritaire.

Un autre essai réalisé dans des conditions plus acides (acide formique) et à une température de 80°C ne permet pas d'accéder au produit souhaité. Là encore, le produit de départ est récupéré majoritairement.

REACTION AVEC L'ISOPRENE EN PRESENCE D'IODURE DE MAGNESIUM DANS LE DIETHYLETHER

CONDENSATION EN MILIEU ACIDE

V.K.Ahluvalia et ses collaborateurs⁵ ont proposé un mécanisme pour la réaction de condensation entre l'isoprène et le substrat phénolique, en catalyse acide. C'est une autre approche pour la réaction de biosynthèse des molécules prénylés.

Le schéma qu'ils soumettent est le suivant (Figure I.5).

En milieu acide l'isoprène peut présenter deux structures de résonance (*1a*) et (*1b*). Le carbocation *1a* substitué sur un noyau phénolique conduit seulement au composé (*2*). Par contre, le carbocation *1b* peut générer une structure intermédiaire instable intégrant le groupement phénolique et prényle (*3*). Cette entité structurale se stabilise à la suite d'une réaction de cyclisation sous forme de 2,2 diméthylchromane, comme produit majoritaire.

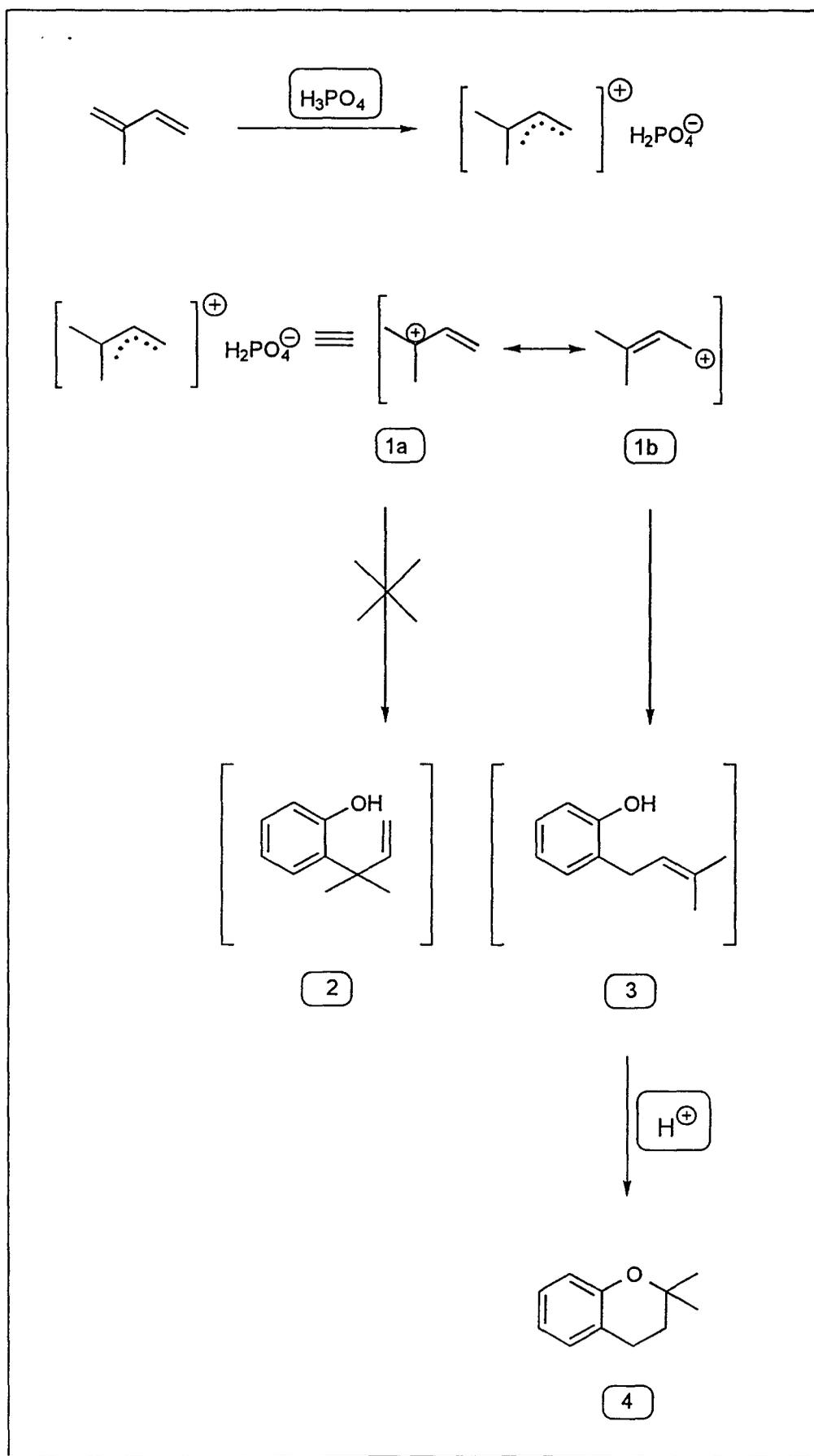


Figure I.5

La condensation de l'acide caféique avec l'isoprène n'a pas donné les résultats escomptés. Dans le mélange obtenu à la fin de la réaction, nous avons retrouvé le produit non prénylé dans une quantité considérable.

P. K. Chowdhury⁶ considère que le système isoprène-magnesium-diéthyléther, pouvait être plus performant que les méthodes décrites auparavant. Cette réactivité serait due à 1-iodo-3-méthylbut-2-ène, formé comme dans le schéma qui suit (Figure I.6). Cet intermédiaire iodé pourrait être capable d'effectuer la réaction de C-prénylation.

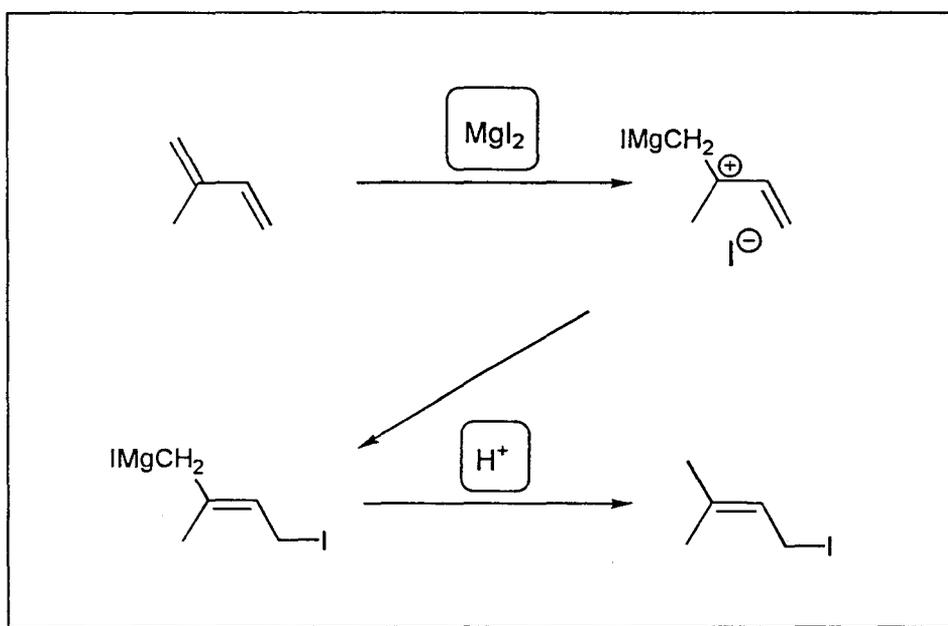


Figure I.6. Formation de 1-iodo-3-méthylbut-2-ène

Dans le cas de phénols le mécanisme de cette réaction est le suivant (Figure I.7):

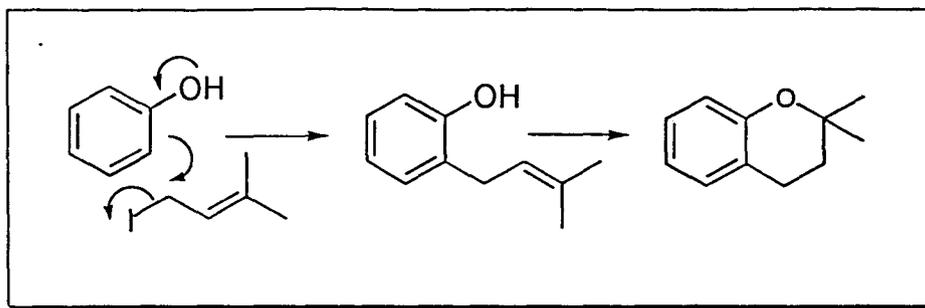


Figure I.7. Alkylation par 1-iodo-3-méthylbut-2-ène.

Pour l'acide caféique, on obtient un mélange constitué de 3-méthylbut-2-énylphénols et de chromanes difficilement séparables.

C-PRENYLATION SUR UN SUPPORT D'ALUMINE

Glüsenkamp et ses collaborateurs⁷ ont montré que si on travaillait sur des phénols substitués par des groupements fortement attracteurs, on pouvait arriver à fixer des motifs prényle sur les noyaux aromatiques. Dans ce cas, on utilise l'alumine comme support pour la réaction entre le substrat phénolique et l'électrophile (1-bromo-2-méthylbut-2-ène). Essayée sur l'acide caféique, cette réaction donne un mélange où on retrouve le produit de départ (mis en évidence par la R.M.N. et par la spectrométrie de masse).

Malgré les efforts déployés, tous les essais réalisés sur l'acide caféique se sont révélés négatifs.

REACTIONS SUR DES PRECURSEURS DE L'ACIDE CAFEÏQUE

Puisque l'acide caféïque n'a pas pu être C-prénylé par une des voies décrites ci-dessus, nous avons pensé que l'acide 3,4-diméthoxycinnamique serait plus réactif. Comme pour l'acide caféïque, les dérivés souhaités ne sont pas obtenus.

Compte tenu de cette particularité de l'acide caféïque et de son dérivé 3,4 diméthoxylé, à ne pas réagir dans des réactions de S.E. nous avons pensé utiliser des produits qui peuvent être des précurseurs de l'acide caféïque.

- Il est facile d'envisager des schémas réactionnels pour aboutir aux produits désirés. Parmi les nombreuses voies auxquelles nous avons pensé, la stratégie décrite dans le schéma suivant (Figure I.8), nous a paru être la plus intéressante.

Elle est inspirée d'une méthode de Saà⁸ qui a réussi à lithier les 4-hydroxy-3-méthoxy-1-méthoxyméthyl ou 1-diméthylaminométhyl benzènes en position 2 avec des bons rendements (voie 1). Nous avons donc tenté cette nouvelle voie de synthèse en nous assurant que les fonctions méthoxyméthyl ou N,N diméthyl amino étaient facilement convertibles en fonction aldéhyde.

Les produits de départ sont donc soit des dérivés ayant la fonction méthoxyméthyle soit la fonction diméthylaminométhyle. Ces groupements peuvent régénérer la fonction carbonyle, à la suite d'une réaction d'oxydation.

Nous éliminons ainsi l'étape de formylation. De plus, des substrats tels que nous envisageons auraient une réactivité plus grande dans la réaction de substitution électrophile.

Nous éliminons ainsi l'étape de formylation. De plus, des substrats tels que nous envisageons auraient une réactivité plus grande dans la réaction de substitution électrophile.

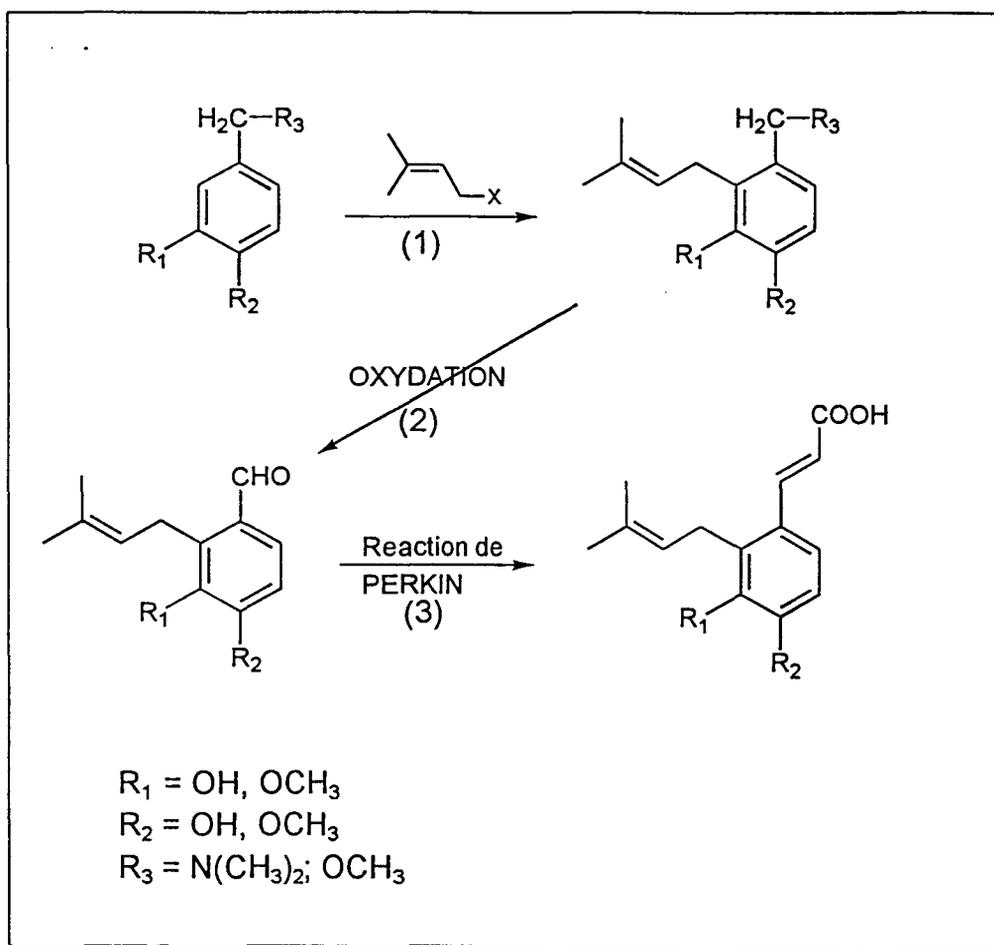


Figure I.8. Schéma réactionnel inspiré d'une méthode de Saà

Avant de tenter l'alkylation (1), nous avons étudié l'étape (2)-d'oxydation benzylique. Cette réaction consiste à oxyder la fonction méthoxyméthyle ou diméthylaminométhyle en fonction aldéhyde.

En série acyclique, le nitrate d'ammonium et de cérium (C.A.N.), en milieu acétonitrile/eau (1:1), oxyde sélectivement les benzyldiméthylamines en nitrate d'immonium qui, par hydrolyse, conduisent aux benzaldéhydes⁹ (Figure I.9)

Cette oxydation est favorisée par la présence de groupements électrodonneurs sur le cycle aromatique et plus particulièrement en position ortho et para (Tableau I.1). Les dérivés diméthoxylés en position relative ortho ou para ne subissent pas d'oxydation déméthylante en benzoquinone comme on aurait pu le supposer. L'oxydation de la fonction méthoxyméthyle,

hydroxyméthyle ou diméthylaminométhyle reste sélective et donne des rendements de l'ordre de 75% dans le cas d'une substitution aromatique en position 3 et 4.

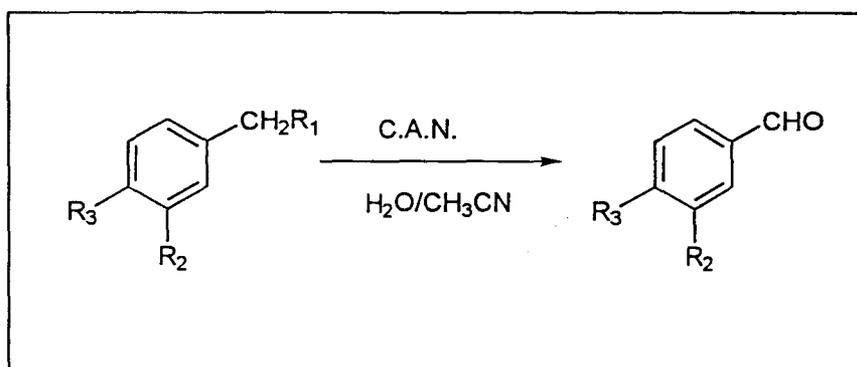


Figure I.9

Tableau I.1

SUBSTRAT	R_1	R_2	R_3	RENDEMENT
1a	$N(CH_3)_2$	OCH_3	OCH_3	72
1b	OCH_3	OCH_3	OCH_3	77
1c	OH	OCH_3	OCH_3	75
1d	$N(CH_3)_2$	OCH_3	OH	0*

* Le mélange réactionnel polymérise

Le schéma que nous proposons est le suivant (Figure I.10):

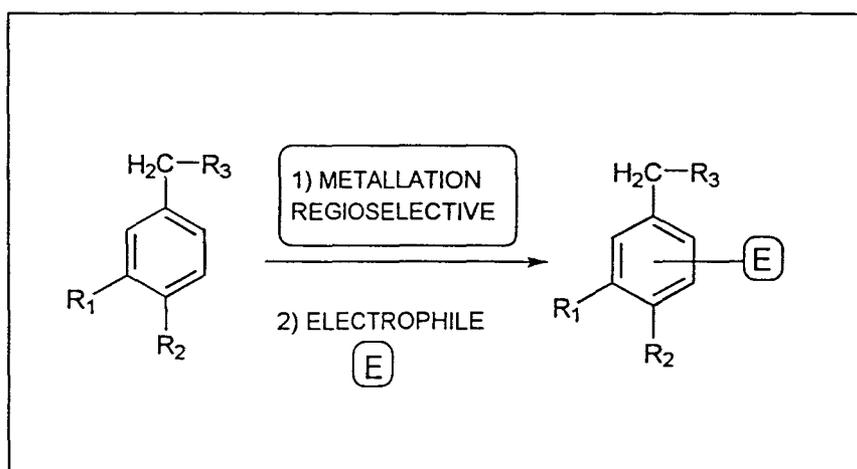
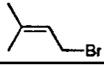
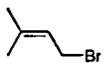
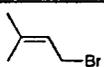


Figure I.10

Nous avons travaillé dans les mêmes conditions que Saà et ses collaborateurs⁸. Le seul produit qu'on arrive à synthétiser est le produit 1a (Tableau I.2).

Tableau I.2

SUBSTRAT	R ₃	R ₂	R ₁	ELECTROPHILE
1a	N(CH ₃) ₂	OCH ₃	OH	
1b	N(CH ₃) ₂	OCH ₃	OCH ₃	
1c	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	

Une fois le dérivé prénylé obtenu, il a été purifié sur une colonne de silice, avec un mélange : acétate d'éthyle : éther de pétrole (1:1) et soumis à l'oxydation par le C.A.N.. A la fin de cette réaction, nous avons récupéré l'aldéhyde non prénylé. L'ensemble du travail effectué peut-être schématisé comme suit (Figure I.11) :

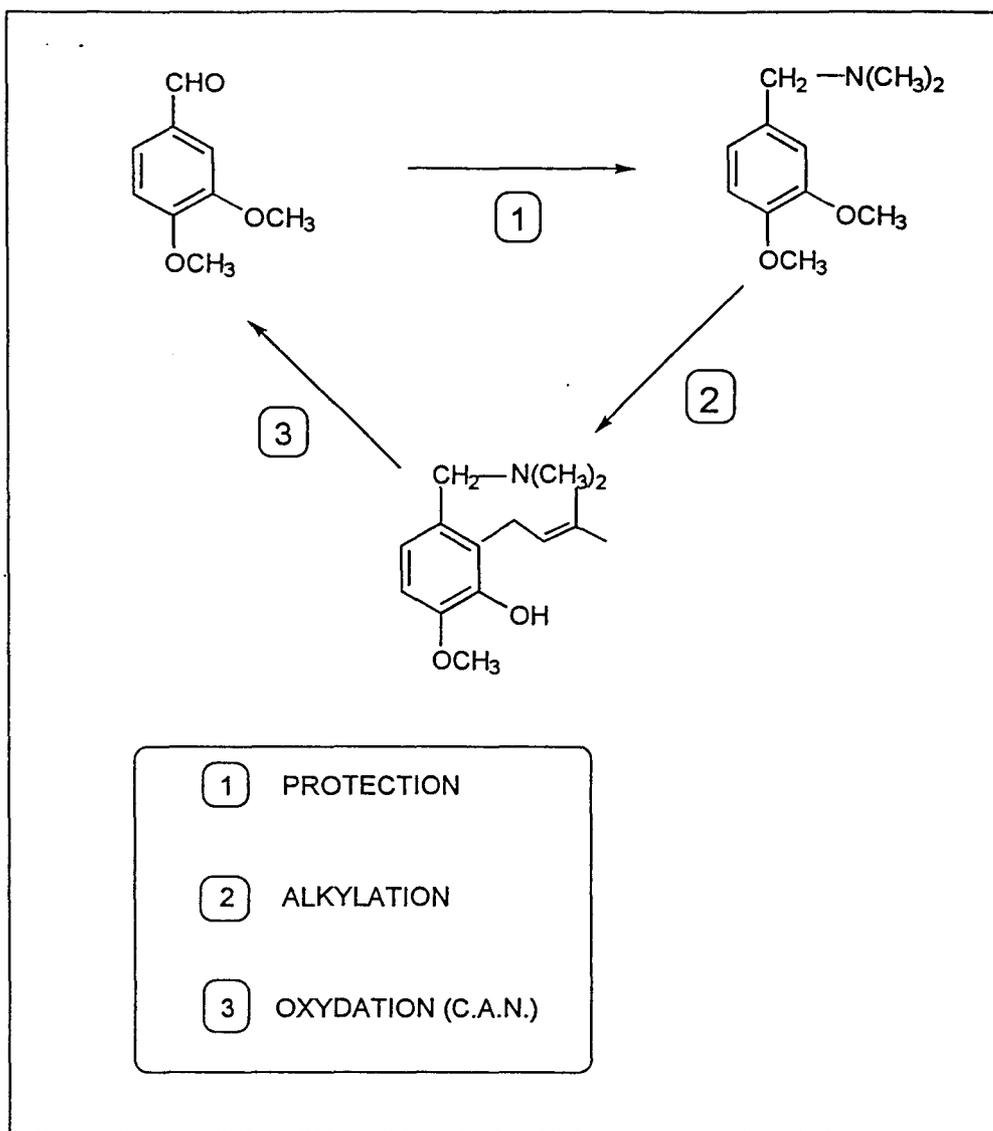


Figure I.11 Voie de synthèse d'un composé carbonylé prénylé

Même si l'oxydation par le C.A.N. est sélective, elle n'est plus intéressante puisque dans ces conditions le groupement prénylé ne peut être maintenu.

REACTIONS SUR DES COMPOSES CARBONYLES

SYNTHESE D'ALDEHYDES PRENYLES

Lithiation, C-alkylation

- A.K. Sinhababu et ses collaborateurs¹⁰ proposent une méthode élégante de synthèse pour obtenir des hydroxybenzaldéhydes à partir de bromobenzaldéhydes. C'est une réaction en une seule étape et la méthode consiste en une protection in situ de l'aldéhyde avec le morpholidure de lithium suivie de l'échange du brome par le lithium. Le lithien obtenu est condensée avec le 3-bromo-3-méthylbut-2-ène.

C'est une amélioration par rapport à la méthode de Saà⁸ puisque la protection de la fonction carbonyle est réalisée in situ et donc une possible réaction du n-BuLi sur celle-ci est exclue.

A.K. Sinhababu¹⁰ décrit le mécanisme de cette réaction comme suit (Figure I.12) :

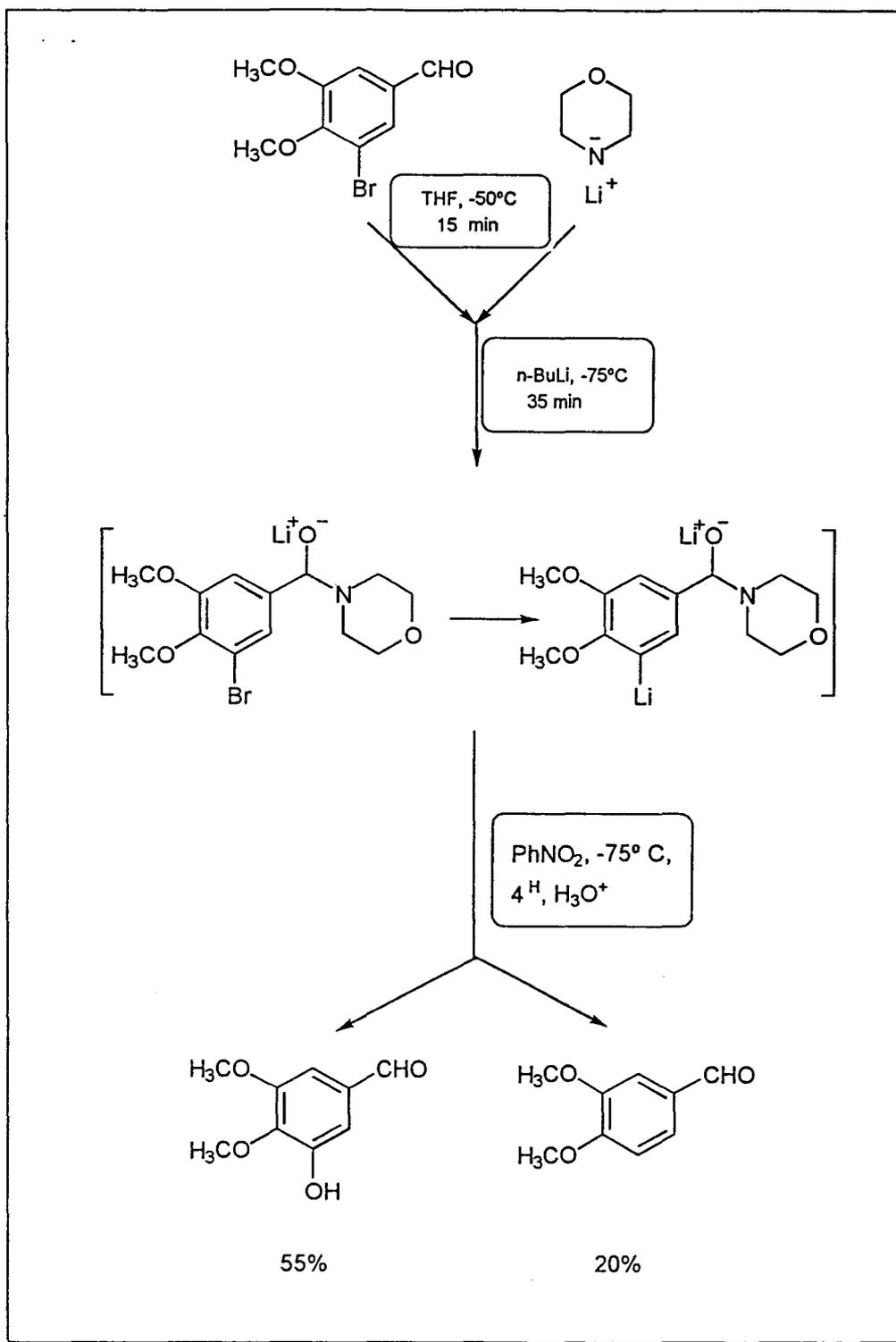


Figure I.12 Schéma réactionnel proposé par A. K. Sinhababu

La stratégie que nous avons envisagée est illustrée dans le schéma suivant (Fig. I.13):

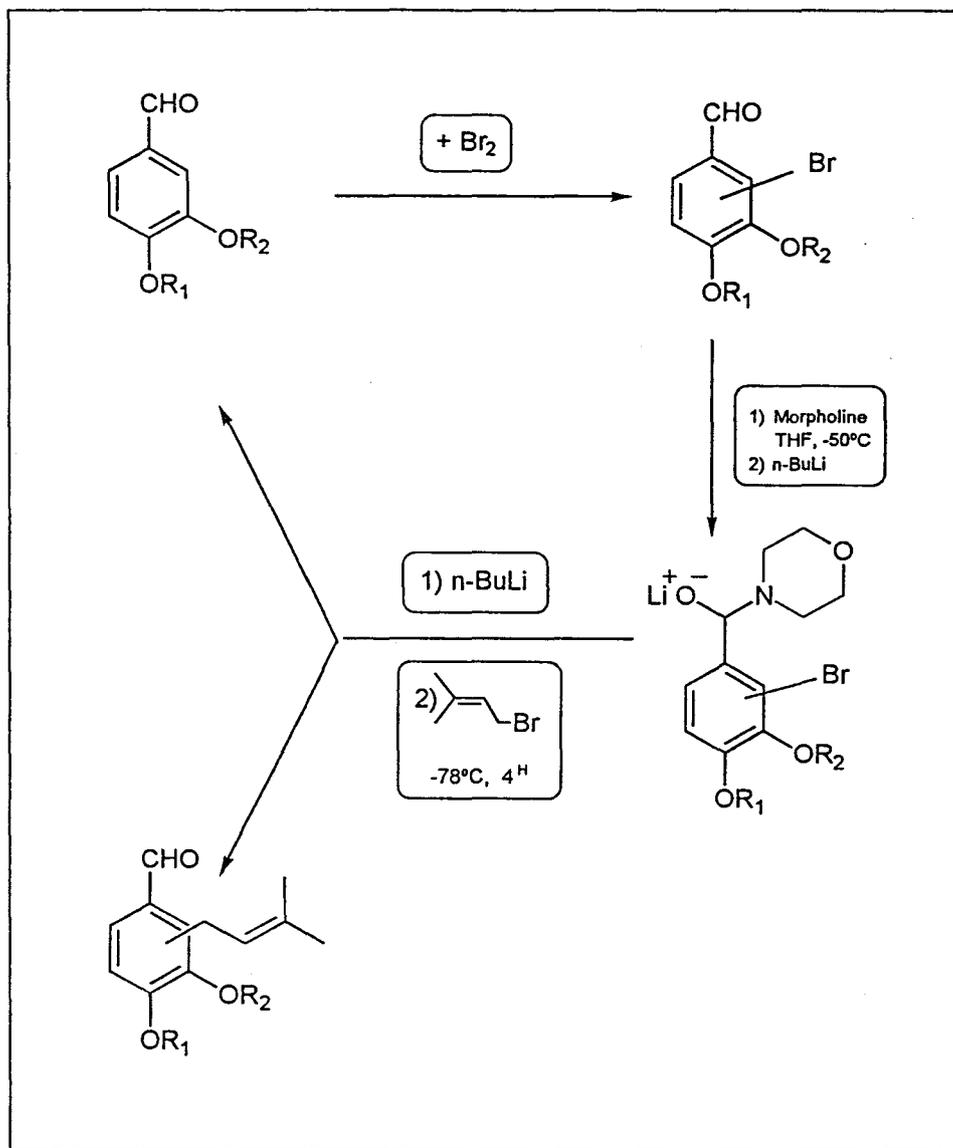


Figure. I.13

Nous avons synthétisé tout d'abord les trois dérivés bromés, tous avec des rendements supérieurs à 80 % (Tableau I.3), utilisant une procédure modifiée de Paulis¹¹ (Figure I.14).

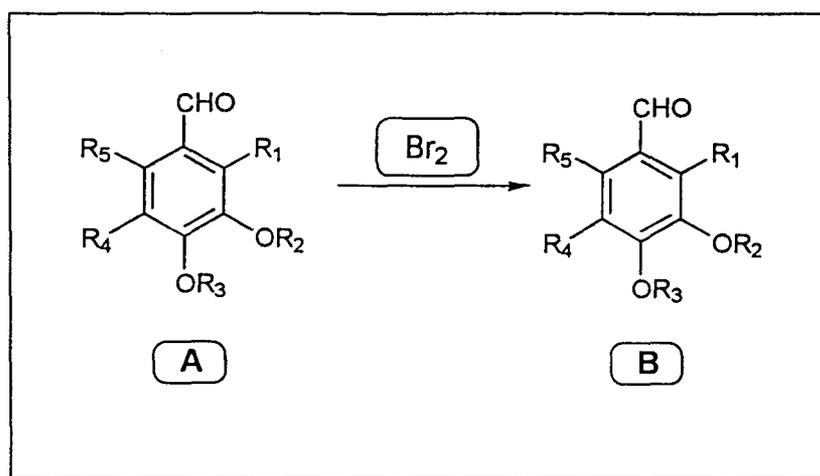


Figure I.14

Tableau I.3

COM POSE	SUBSTRAT A					DERIVE BROME B					Rdt.
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	
1	H	H	CH ₃	H	H	Br	H*	CH ₃	H	H	65%
2**	H	CH ₃	CH ₃	H	H	H	CH ₃	CH ₃	H	Br	85%
3***	H	CH ₃	H	Br	H	H	CH ₃	CH ₃	Br	H	92%

*Protection du groupement phénolique du dérivé bromé; réaction avec le diméthyl sulfate en catalyse en transfert de phase (P.T.C.)¹²; rendement > 90%.

**Le 6-bromovératraldéhyde est commercial, mais on peut l'obtenir aussi par la procédure décrite¹¹.

***Le 5-bromovératraldéhyde est commercial

La 5-bromovanilline est commercial; la protection du groupement phénol est faite par une réaction de catalyse en transfert de phase¹², avec le diméthylsulfate; rendement > 90%.

SYNTHESE DES ACIDES CINNAMIQUES

Synthèse des dérivés prénylés en position 5 ou 6 de l'acide 3,4 diméthoxycinnamique

La réaction de condensation d'un aldéhyde aromatique et d'une anhydride pour l'obtention des acides carboxyliques α,β insaturés est connue sous le nom de *Réaction de Perkin*

Nous avons utilisé cette procédure¹³ pour la synthèse des acides cinnamiques (Figure I.16). Afin d'éviter la polymérisation des dérivés prénylés, nous avons travaillé à la température ambiante, mais en augmentant le temps réactionnel (plus de trois semaines).

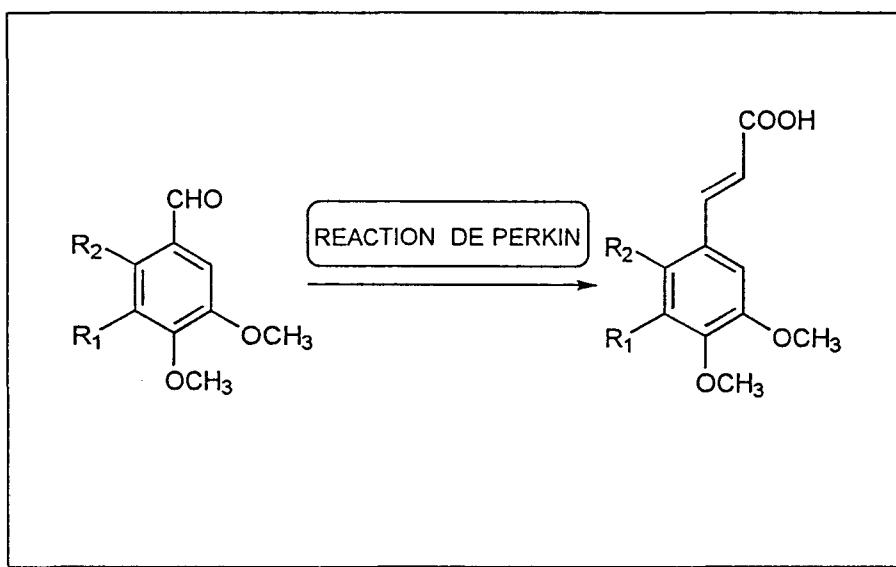


Figure.I.16 Schéma d'une réaction de Perkin

Acide 3 - [5 - (3 - méthylbut - 2 - ényl) - 3,4 - diméthoxyphényl] prop -2- énoïque a été synthétisé avec un rendement de 47%. Par contre l'acide 3 - [6 - (3 - méthylbut - 2 - ényl) - 3,4 - diméthoxyphényl] prop -2- énoïque n'a jamais été obtenu, malgré les efforts déployés.

Essai de synthèse d'un dérivé prénylé de l'acide caféique

Comme le but de ce travail était la synthèse des dérivés prénylés de l'acide caféique, nous avons tenté une réaction de déprotection des groupements hydroxyles, en utilisant le tribromure de brome¹⁴.

Pour l'acide cinnamique prénylé en position 5, après la réaction de déméthylation, nous obtenons le dérivé du chromane, avec 30% de rendement (Figure I.17).

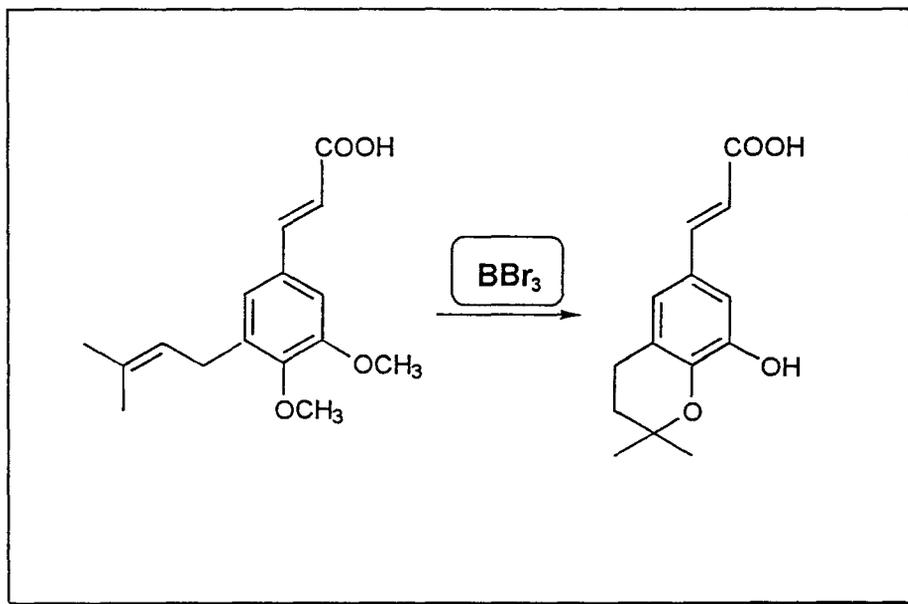


Figure I.17 Réaction de déméthylation en présence de tribromure de brome

SYNTHESE D'ACIDES CINNAMIQUES INTEGRANT LE MOTIF CHROMENE

Nous nous sommes également intéressés aux acides cinnamiques qui possèdent la structure du chromène et celle du chromane.

Pour synthétiser des dérivés ayant les motifs de l'acide caféïque et celui du chromène, nous avons utilisé une procédure décrite par Crombie¹⁵, avec une modification pour la première étape. En effet, une catalyse en transfert de phase sera effectuée pour cette première étape, puisqu'elle se réalise avec des rendements supérieurs par rapport à la procédure proposée par Crombie¹⁵.

L'isovanilline et le 3-chloro-3-méthylbutène sont mis en réaction pendant 65 heures, à reflux de l'acétone sec, en présence de K_2CO_3 et d'une quantité catalytique de KI. Les rendements de cette étape ne dépassent pas 25%.

Néanmoins en travaillant dans des conditions de catalyse en transfert de phase¹² "P.T.C" (Figure I.18), nous avons pu augmenter le rendement de la première réaction, de 23% à 80%, en diminuant aussi le temps de la réaction (de 65 heures à 12-15 heures). De plus, nous obtenons le produit pur après un simple lavage basique (Tableau I.4).

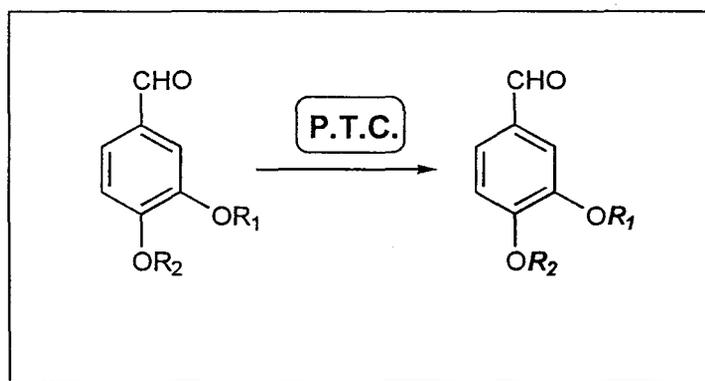
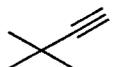
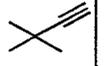


Figure I.18 Schéma d'une réaction de catalyse en transfert de phase

Tableau I.4

COMPOSE	SUBSTRAT		PRODUIT		RENDEMENT
	R ₁	R ₂	R ₁	R ₂	
1a	H	CH ₃		CH ₃	85%
1b	CH ₃	H	CH ₃		78%

Le travail illustré dans la Figure I.19 a été réalisé à partir de l'isovanilline:

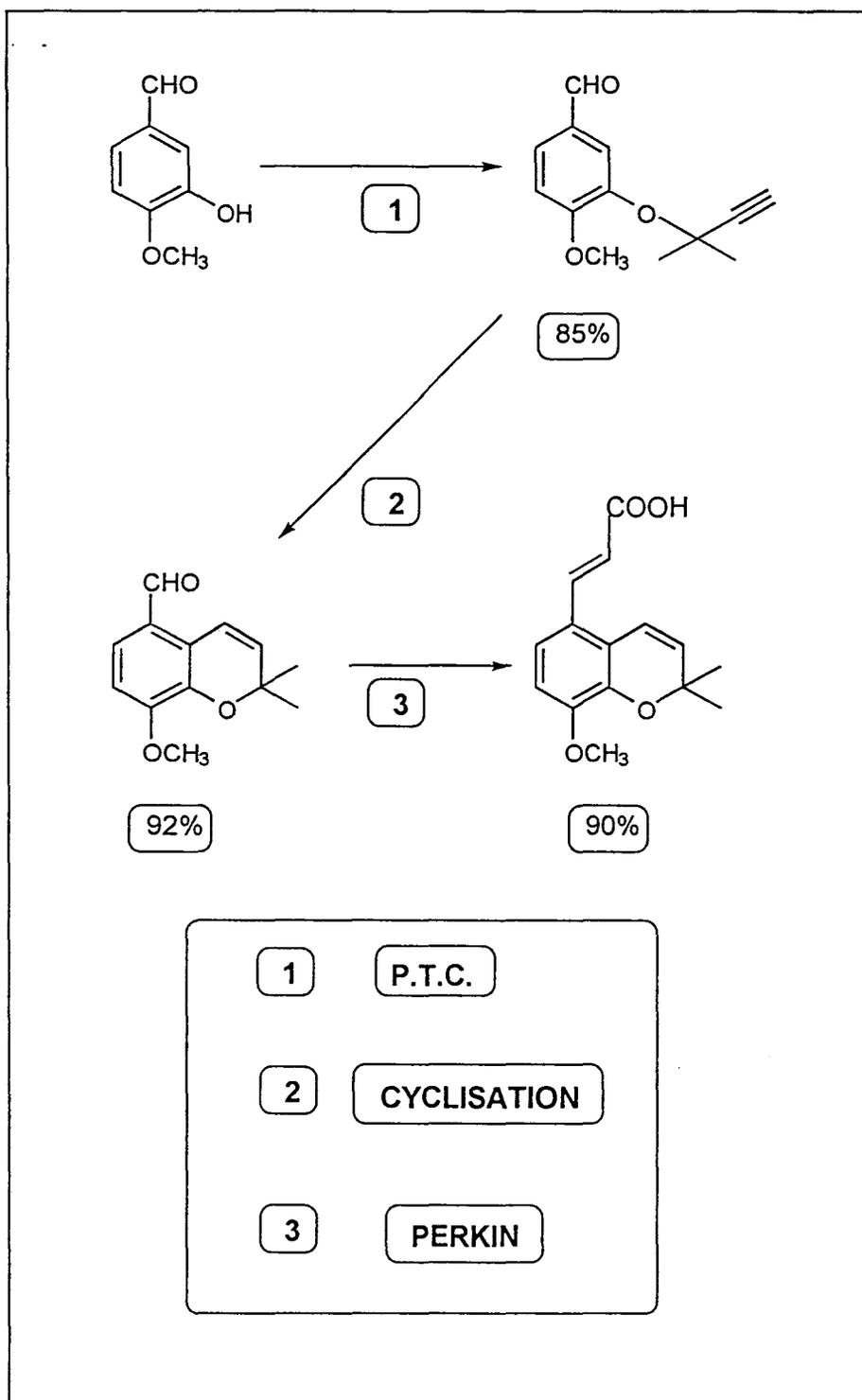


Figure I.19 Voie de synthèse de l'acide 5 - carboxyéthényl - 8 - méthyox - 2,2 diméthylchromène

La vanilline, a été également soumise aux mêmes conditions.mais les rendements ne dépassent pas 70% pour la première étape (Figure I.20).

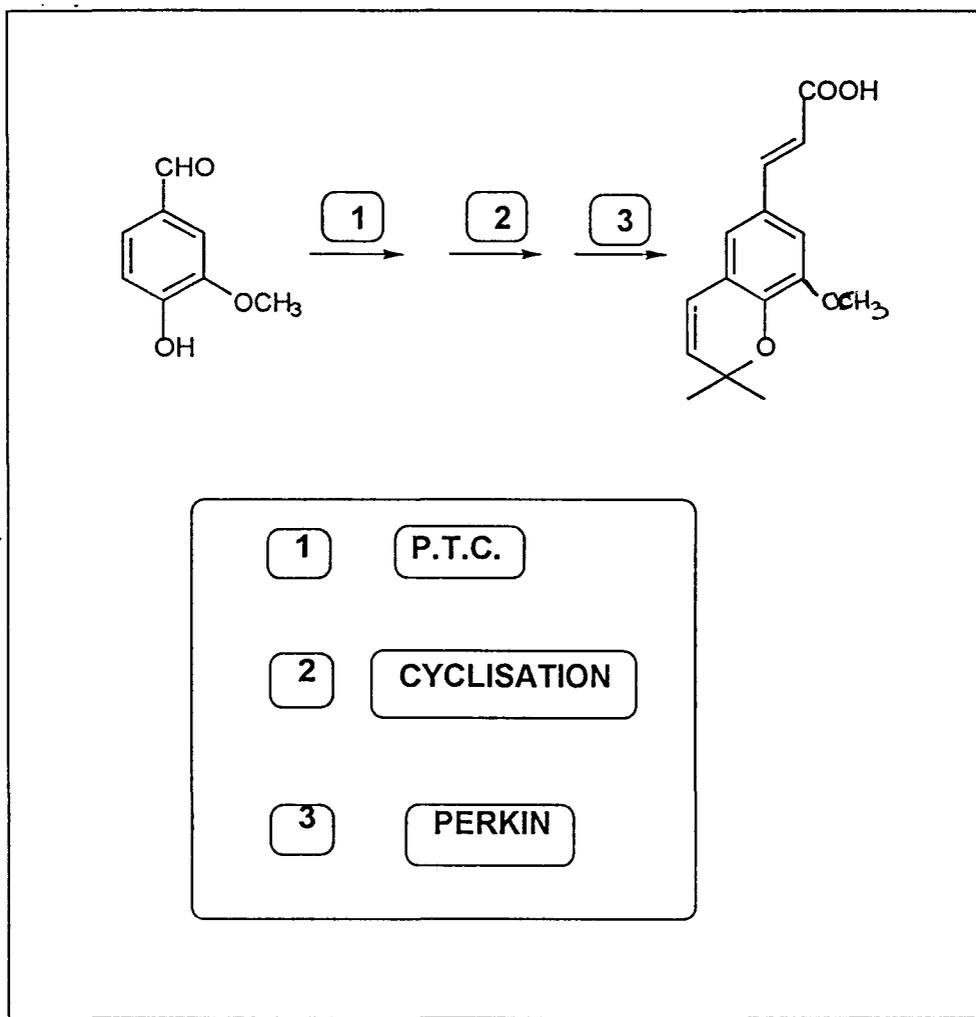


Figure I. 20 Voie de synthèse de l'acide 6 - carboxyéthényl - 8 - méthoxy - 2,2 diméthylchromène

CONCLUSION

Pour la synthèse des dérivés prénylés de l'acide caféïque, comme nous l'avons pu constater, le chemin est difficile. Quelles que soient les conditions d'alkylation utilisée un seul acide 3,4 diméthoxy cinnamique prénylé a été synthétisé. Il s'agit de *l'acide 3 - [5 - (3 - méthylbut - 2 - ényl) - 3,4 - diméthoxyphényl] prop -2- énoïque*

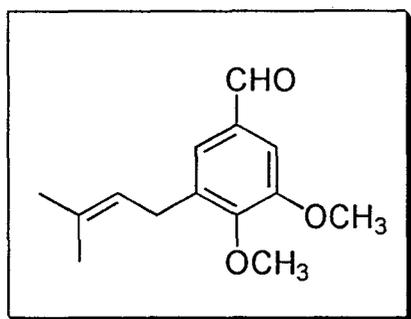
Aucun isomère de l'acide caféïque prénylé n'est obtenu. Même dans des conditions douces de déméthylation cette réaction ne conduit pas au motif catéchol. Le dérivé du chromane est obtenu avec un rendement de 30%.

La réaction de Perkin sur l'aldéhyde 3,4 diméthoxy-6-(-3-méthyl-2-ényl)-benzoïque ne donne pas des résultats. Nous l'avons essayée plusieurs fois en agissant sur les conditions de la réaction, mais l'acide cinnamique n'a jamais été obtenu.

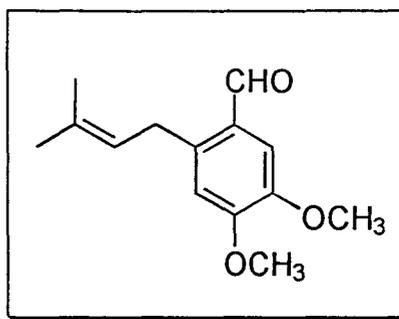
L'aldéhyde prénylé en position deux n'a pas pu être obtenu, malgré les efforts déployés qu'à l'état de trace (quantité insuffisante pour les étapes ultérieures).

Nous avons donc synthétisé sept nouveaux produits dans la série diméthoxylé, ainsi qu'un dérivé du chromane intégrant la fonction hydroxyle.

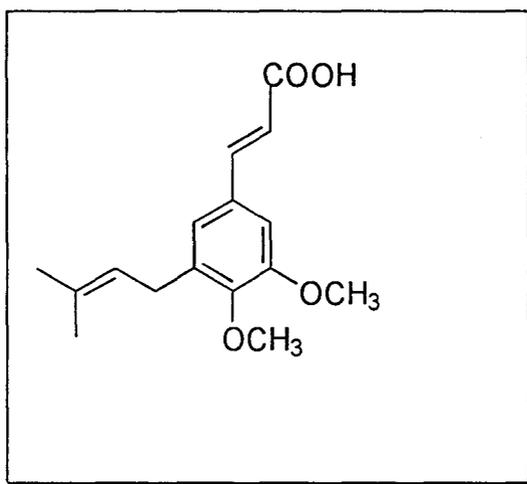
Par la suite, sont les composés de la série méthoxylée qui ont fait l'objet d'une étude approfondie. Le choix a été motivé par la nouveauté structurale de telles molécules.



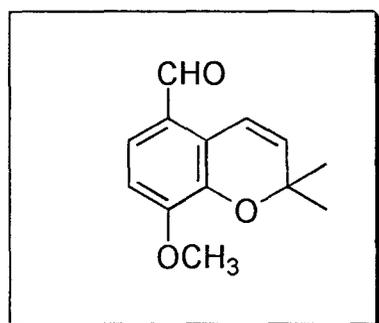
(Ald I)



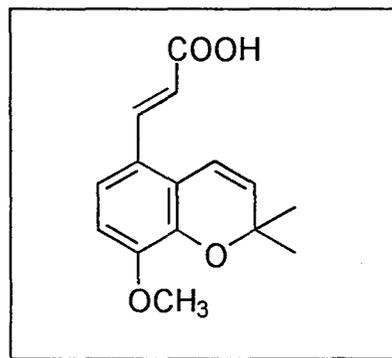
(Ald II)



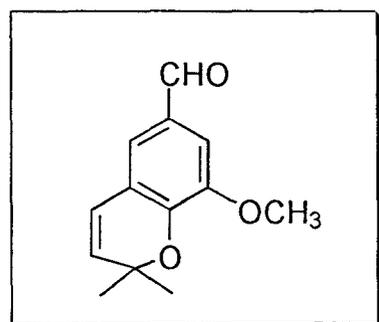
(PDC)



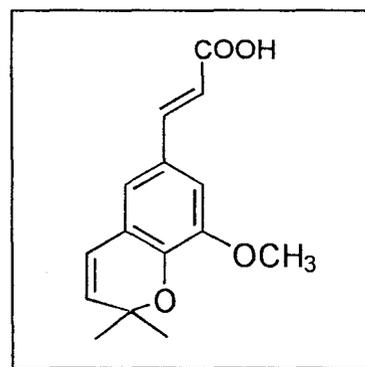
(AldCD)



(ACD)



(AldCS)

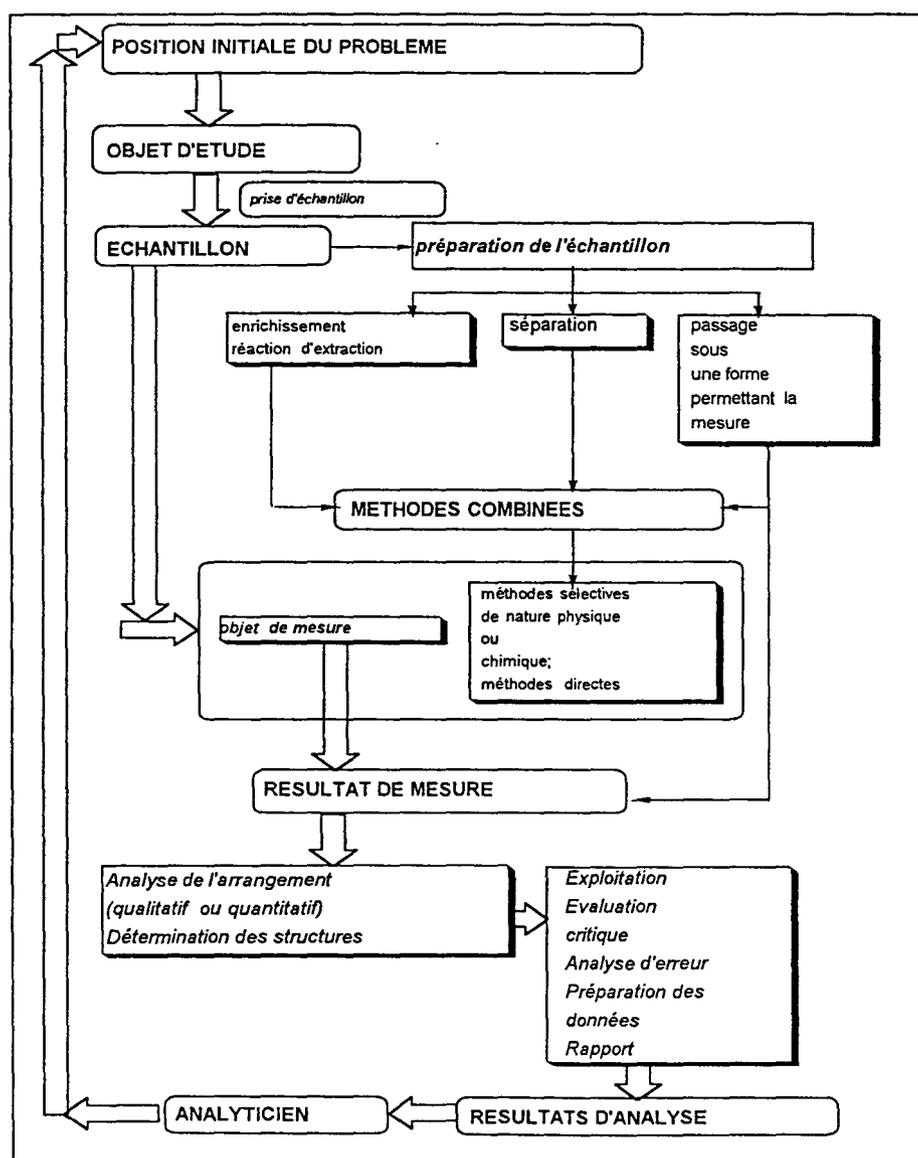


(ACS)

POSITION DU PROBLEME ET STRATEGIE D'ANALYSE

Pour pouvoir définir une stratégie d'analyse, il est en premier lieu nécessaire de bien connaître le but de la recherche. Malgré l'efficacité des instruments d'analyse, une étude directe de l'échantillon n'est aujourd'hui possible que dans un petit nombre de cas. Des matrices complexes ou encore des problèmes délicats rendent utile une combinaison de méthodes, l'enchaînement de plusieurs étapes, qui constitue l'essence même de l'analyse chimique moderne, établie à la fois par la pratique et la théorie.

Le travail d'un chimiste analyste réside donc dans la mise au point d'une telle stratégie¹⁶, que l'on peut résumer dans le schéma suivant:



CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE

CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

La chromatographie sur couche mince¹⁷ (CCM) est une méthode d'une mise en oeuvre assez simple, qui ne nécessite, en général, qu'un appareillage élémentaire et de ce fait, très peu coûteux. Par ailleurs, dans le cas de l'analyse d'un mélange inconnu ou très peu complexe, l'étude préalable par CCM peut s'avérer très utile en raison de l'existence de nombreuses méthodes de révélation. De même, il a été publié des milliers de séparations par CCM sur gel de silice et les données bibliographiques peuvent constituer un guide pour le choix de la phase éluante.

En CCM on caractérise la migration d'un soluté par son R_F (abréviation de "rate factor"), défini par:

$$R_F = \frac{\text{distance parcourue par le soluté}}{\text{distance parcourue par le front du solvant}}$$

CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE

En chromatographie sur colonne¹⁷, pour s'affranchir des paramètres géométriques de la colonne, on utilise pour caractériser la rétention d'un composé, le facteur de capacité k' , défini comme le rapport de la quantité de soluté dans la phase stationnaire ($c_S V_S$) à la quantité de soluté dans la phase mobile ($c_M V_M$)

$$k' = \frac{c_S V_S}{c_M V_M} = K \frac{V_S}{V_M}$$

c_S et c_M désignant respectivement les concentrations du soluté dans les phases stationnaire et mobile;

- V_S volume de la phase stationnaire;
 V_M volume de la phase éluante contenu dans la colonne;
 K coefficient de distribution (ou coefficient de partage), caractéristique pour chaque soluté

Pour une colonne chromatographique donnée, le rapport V_S/V_M est constant. Le facteur de capacité k' peut être déterminé expérimentalement, aux moyens des relations:

$$k' = \frac{V_R - V_M}{V_M} = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

- t_R temps de rétention (le temps d'élution au maximum du pic, mesuré à partir de l'injection);
 t_0 temps correspondant à l'écoulement du volume de phase mobile V_M contenu dans la colonne (à condition toutefois que les volumes morts extérieurs à la colonne soient négligeables).

Le temps de rétention t_0 d'un composé non retenu étant égal au quotient de la longueur de la colonne (L), par la vitesse linéaire (v) de phase mobile on peut écrire:

$$t_R = \frac{L}{v} (1 + k')$$

Etant donné que la chromatographie sur colonne est une méthode facile, accessible à tous les laboratoires et efficace pour l'obtention des produits à l'état pur, qui seront analysés ultérieurement, il était devenu intéressant de pouvoir transposer en colonne, des séparations effectuées par CCM.

Principe de la transposition

Dans les conditions idéales, il y a une relation simple entre R_F et k' :

$$k' = K \frac{W_a}{V_M}$$

W_a la masse de phase stationnaire
 V_M volume de la phase mobile sur la plaque.

Le coefficient de transposition est défini par:

$$K_r = \frac{[W_a / V_M]_{CC}}{[W_a / V_M]_{CCM}}$$

coefficient qui sera constant dans des conditions expérimentales déterminées;

La relation de transposition s'écrit:

$$k'_{CC} = K_r \left(\frac{1}{R_F} - 1 \right)$$

Elle a été vérifiée pour de nombreuses séparations à la condition que d'une part, les phases stationnaires et mobiles utilisées en CCM et dans la colonne soient identiques, (ceci afin que la constante de distribution K soit la même dans les deux méthodes) et que d'autre part, certaines précautions opératoires soient respectées.

SPECTROSCOPIE DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE

Parmi les diverses méthodes spectroscopiques permettant d'accéder aux structures et aux comportements physico-chimiques des édifices moléculaires, la résonance magnétique nucléaire (RMN) est relativement récente¹⁸.

La base de la RMN est le magnétisme nucléaire (Figure I.21). L'énergie d'interaction des moments magnétiques nucléaires d'une substance, avec un champ magnétique extérieur B_0 est en fait constituée d'un certain nombre de niveaux discrets (E_i) caractéristiques. Il est possible, au moyen d'un émetteur à haute fréquence, d'induire des transitions entre ces niveaux d'énergie. L'absorption d'énergie qui en résulte est enregistrée sous forme de "raie spectrale", ou signal de résonance (ou spectre RMN).

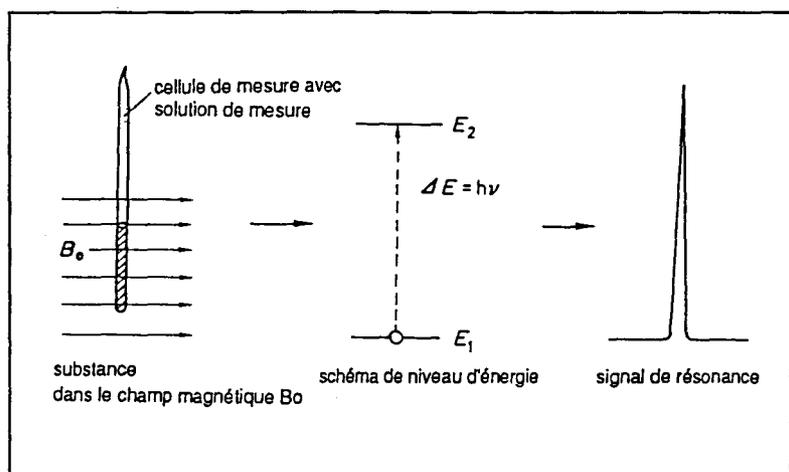


Figure I.21 Représentation d'un signal de résonance

Seuls les atomes dont le noyau possède un moment magnétique donnent lieu au phénomène de résonance magnétique, parmi lesquels le proton ^1H , le fluor ^{19}F , ou les isotopes de l'azote ^{14}N et ^{15}N . Par contre, le carbone ^{12}C , si important en chimie organique, ainsi que tous les autres noyaux ayant un nombre de masse et un nombre atomique pairs, par leurs moments magnétiques nuls, ne donnent pas de signal de résonance. Pour cette raison, l'obtention d'un signal de résonance du carbone est limitée à son isotope ^{13}C (abondance naturelle 1,1%).

LA RMN-FT

C'est avec la *technique de la transformation de Fourier*¹⁸, que l'ordinateur a fait son entrée dans la spectrométrie et aujourd'hui le traitement électronique des données y joue un rôle primordial.

La meilleure explication du principe d'un appareil RMN-FT peut-être donnée par un diagramme simplifié, tel qu'il est présenté par la Figure I.22.

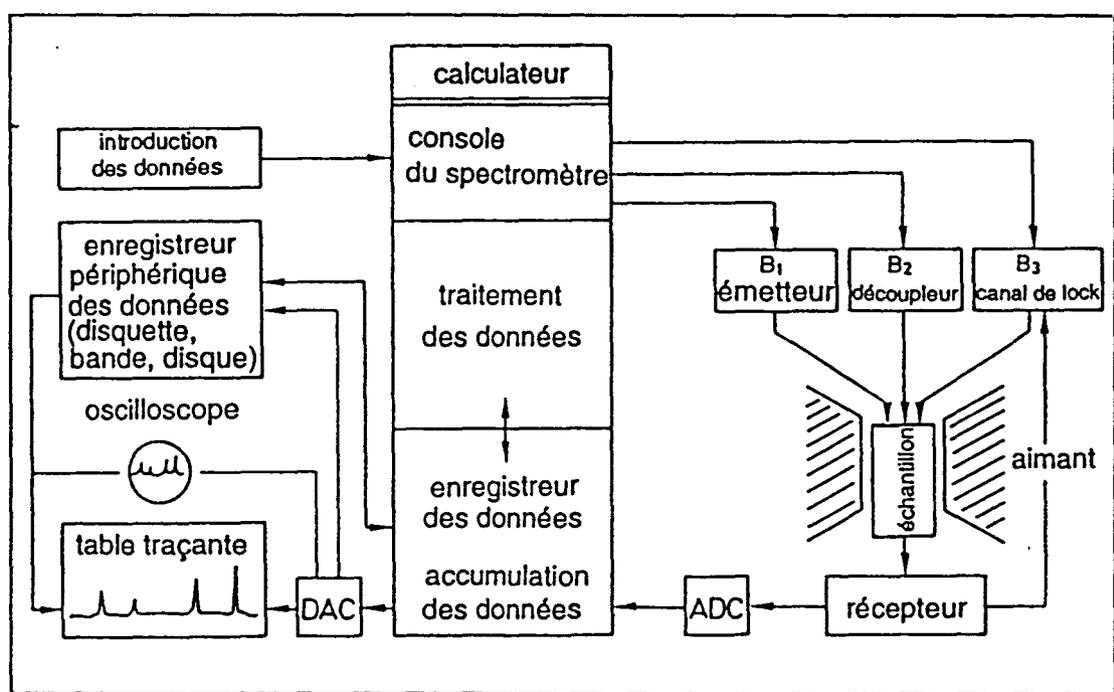


Figure I.22 Schéma d'un spectromètre RMN - FT

La Figure I.23 illustre le flux de donnée d'une expérience de RMN-FT, à commencer par le **FID** (free induction decay), l'acquisition des données dans le **CAD** (convertisseur analogique-digital) en passant par l'ordinateur et le **CDA** (convertisseur digital-analogique), pour finir par l'enregistreur, qui représentera le spectre RMN conventionnel sur l'échelle des fréquences.

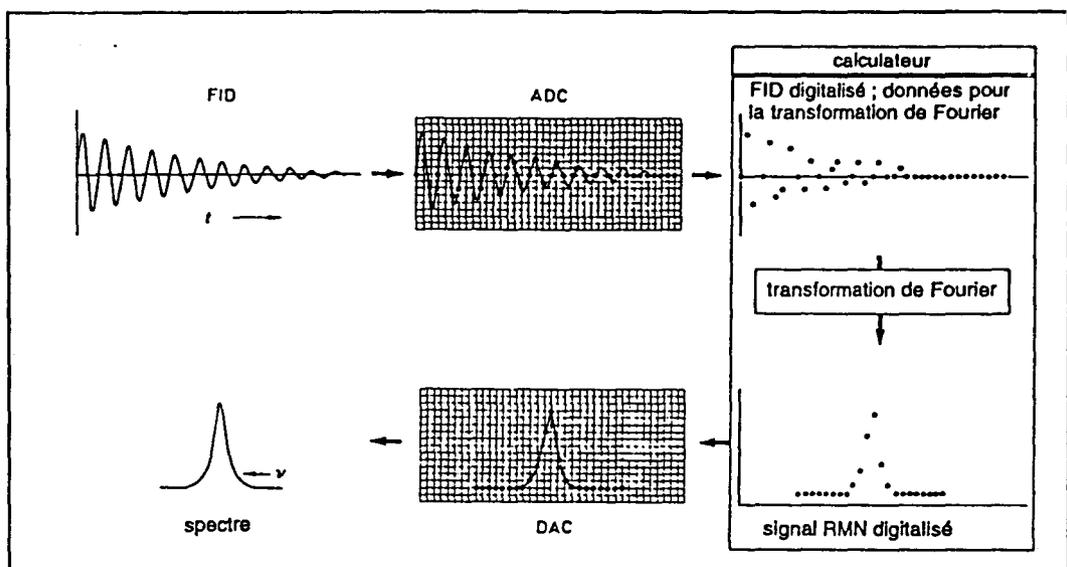


Figure I.23 Flux de données pour une expérience de RMN - FT

LA RMN DU PROTON

Le spectre RMN du proton (RMN ^1H) d'une molécule est généralement constitué des plusieurs signaux de résonance. Les diverses fréquences de résonance correspondent aux différents types de protons de la molécule (des protons situés dans des environnements différents). L'écart entre deux signaux est appelé déplacement chimique et les surfaces des signaux de résonance sont proportionnelles au nombre de protons correspondants. L'interaction de couplage spin-spin (interaction à travers les liaisons chimiques entre les moments magnétiques des noyaux) est responsable de la multiplicité du signal.

La multiplicité et les intensités relatives des signaux au sein d'un multiplet sont clairement liées au nombre de protons des groupes voisins.

L'étude du couplage spin-spin permet d'atteindre les paramètres géométriques reliant les divers noyaux, la constante de couplage J dépendant du nombre, de la nature et des angles des liaisons.

LA RMN DU ^{13}C

La spectroscopie de RMN ^{13}C a connu un développement spectaculaire, lors de l'introduction de la *spectroscopie à transformée de Fourier*. La possibilité d'accumuler un grand nombre de spectres en un temps relativement court, créa les conditions nécessaires à l'utilisation courante de la spectroscopie de RMN du ^{13}C

Il y a quelques aspects généraux de la RMN du ^{13}C qui méritent une attention particulière.

Les spectres du ^{13}C diffèrent quelque peu de ceux du proton, les déplacements chimiques apparaissant notamment dans une zone plus étendue : 0-200 ppm, alors que, pour la plupart des protons, l'échelle va de 0 à 14 ppm. En raison de cette zone plus étendue les spectres du ^{13}C sont plus simples que ceux du proton.

Par suite de la faible abondance naturelle du ^{13}C , l'aire du pic ne donne pas une mesure précise du nombre des atomes de carbone responsables de ce pic et de ce fait elle ne présente pas grand intérêt.

Une autre conséquence de la faible abondance naturelle du ^{13}C est que la chance de trouver deux ^{13}C adjacents dans la même molécule est très petite et le plus souvent les couplages spin-spin entre deux ^{13}C n'apparaissent pas, ce qui simplifie le spectre. Par contre, des couplages ^{13}C - ^1H peuvent apparaître.

En combinant les deux techniques: ^1H et ^{13}C on dispose d'un puissant moyen de détermination des structures organiques.

LA RMN EN DEUX DIMENSIONS

La principale innovation qui a révolutionné tous les domaines de la RMN est cependant, sans aucun doute, la conception de la spectroscopie de RMN à **deux dimensions**. Des méthodes particulières de spectroscopie à impulsion permettent l'enregistrement de

spectres de RMN ayant deux axes de fréquence indépendants: F_1 , F_2 . Dans un tel spectre 2D, les signaux sont caractérisés par une paire de fréquences f_1 , f_2 . En pratique ce sont les spectres possédant des données de déplacement sur les deux axes de fréquence qui ont le plus d'intérêt, car ils permettent une corrélation des fréquences de résonance de différents noyaux et par là, une interprétation plus facile des spectres.

On distingue des corrélations de déplacement homo ou hétéronucléaire, selon que F_1 et F_2 contiennent des fréquences de noyaux de même espèce (des protons) ou des noyaux des espèces différentes, par exemple de ^1H en F_1 et de ^{13}C en F_2 (Figure I.24).

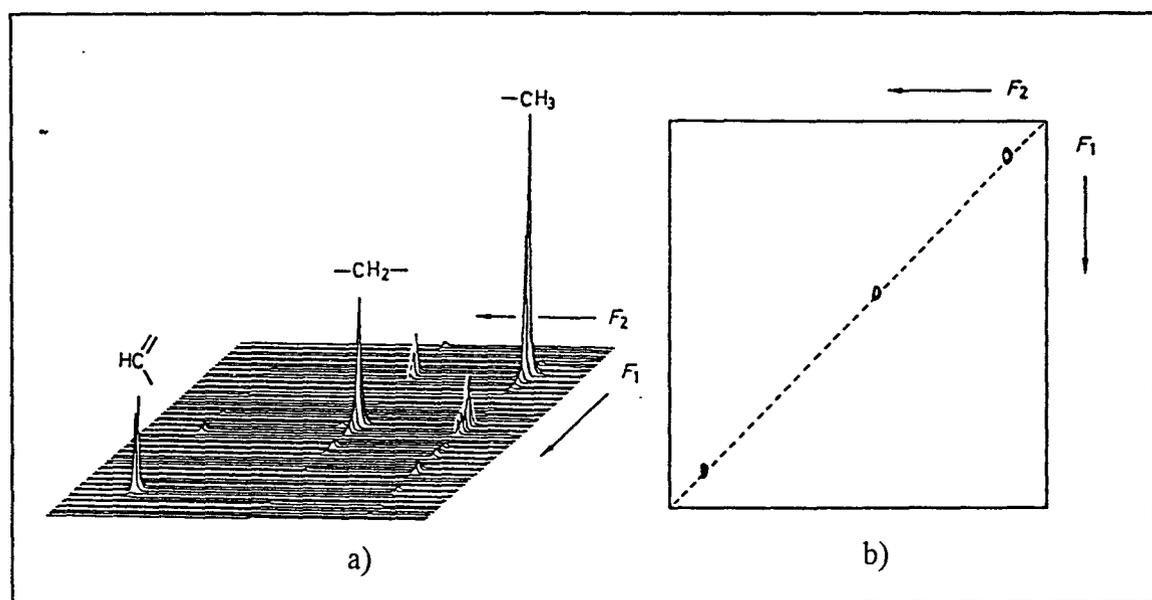


Figure I.24

Spectre COSY ^1H , ^1H -2D du formiate d'éthyle avec l'axe de fréquence F_1 et F_2 ;
a) représentation échelonnée; b) diagramme de contours

En résumé, nous pouvons conclure que la spectrométrie de RMN est devenue de nos jours, une technique d'analyse indispensable pour élucider la structure des composés organiques.

SPECTROMETRIE IR

Le domaine de l'infrarouge moyen va de 2,5 à 15 microns et correspond aux transitions dont les énergies varient de 2 à 12 kcal/mole. Ces énergies sont suffisantes pour exciter les liaisons covalentes et pour les faire passer d'un état vibrationnel à un autre.

Il y a deux types de vibrations: les vibrations d'élongation des liaisons (ou de valence) et les vibrations de déformation des liaisons¹⁹.

Des vibrations d'élongation et de déformation différentes impliquent des énergies différentes et correspondent donc à des fréquences infrarouges différentes. De plus, des liaisons entre types d'atomes différents vibreront à des fréquences différentes. Il s'ensuit que les spectres **IR** sont particulièrement utiles pour déterminer les types de liaisons présents dans les molécules.

On distingue deux régions importantes dans un spectre **IR**:

- région des groupes fonctionnels;
- région des empreintes digitales: c'est une région des basses fréquences du spectre; ses bandes résultent des vibrations de déformation et d'élongation combinées et sont uniques pour tout composé particulier.

Pour conclure, avec la spectrométrie **IR** on peut notamment, par l'examen du domaine des groupes fonctionnels, dire quels types de liaisons sont présentes dans une molécule et par l'examen du domaine des empreintes digitales, préciser si deux substances sont identiques ou non.

SPECTROMETRIE DE MASSE

A la différence des méthodes de spectrométrie moléculaire proprement dites: RMN, IR, UV-VIS, dans le cas de la spectrométrie de masse¹⁹, les résultats de réactions chimiques de cassure (dues à un processus d'ionisation) seront utilisés pour l'analyse de la structure des substances. Les ions formés seront séparés (focalisation de masse) en fonction du rapport *masse/charge* (m/e) dans un système d'analyse (champ électrique ou magnétique).

Le spectre de masse est constitué d'une série des signaux d'intensités (ou d'abondance relative) variées aux différents rapports m/e . Pratiquement, la plupart des ions sont simplement chargés ($e=1$), si bien qu'on peut aisément obtenir leurs masses.

D'une manière générale, la fragmentation des ions dépend de leur structure et son interprétation peut apporter des informations importantes sur la structure moléculaire.

PARTIE EXPERIMENTALE

Synthèse des bromo-3,4-diméthoxybenzaldéhydes

Procédure générale

3,9 g de l'aldéhyde dissous dans 40 mL d'acide acétique glacial sont mélangés avec une solution aqueuse de KBr (6 g dans 10 mL d'eau). Le brut réactionnel est porté à reflux (110°C). Après que le reflux soit atteint, on ajoute goutte à goutte une solution de brome (0,026 mole dans 10 mL acide acétique glacial) pendant 20 minutes.

Une fois la réaction achevée (vérification par chromatographie sur couche mince sur gel de silice Kieselgel 60 F₂₅₄), la solution est refroidie à l'air pour obtenir des cristaux purs.

Le produit est recristallisé dans l'éthanol.

Synthèse d'aldéhydes prénylés

Réaction de métallation. Procédure générale

Dans un tricol prévu avec une entrée d'argon et un réfrigérant sont mélangés: 1mL de morpholine et 20 mL THF anhydre. Le mélange est refroidi à -50°C. On ajoute 7,5 mL BuLi sous agitation et sous atmosphère inerte. Après apparition de la couleur jaune caractéristique pour les dérivés lithiés, la solution de bromo benzaldéhyde (0,01 mole dans 15-30 mL THF anhydre) est ajoutée lentement, durant quelques minutes. La solution est refroidie à -78°C.

On laisse la réaction évoluer à cette température. Après 15 minutes à -78°C on ajoute 10 mL BuLi goutte-à-goutte et le mélange est laissé sous agitation pendant 35 minutes à -78°C . L'électrophile est ajouté (10 mL de bromure de 3-méthylbut-2-ène) et la température de la réaction est maintenue encore 4 heures à -78°C . On laisse le mélange réactionnel revenir à température ambiante pendant au moins 12 heures (la réaction est suivie par CCM).

Après l'hydrolyse, le solvant est évaporé et la phase aqueuse est extraite à l'éther (4 x 20 mL). La phase organique est séchée sur MgSO_4 (ou Na_2SO_4). Après filtration et évaporation du solvant on obtient un mélange de trois produits : l'aldéhyde de départ non bromé, le produit prénylé et une faible quantité de dérivé bromé (l'électrophile) qui n'a pas réagi. Après un passage sur une colonne de silice, utilisant comme éluant un mélange d'acétate d'éthyle : éther de pétrole = 6 : 4 on obtient l'aldéhyde prénylé pur.

Les rendements de cette réaction sont entre 45-55%.

Réaction de Perkin

Procédure générale

Dans un ballon bicol équipé avec une sortie de CO_2 , 0.0091 mole d'acide malonique sont solubilisés dans 5 mL pyridine. L'aldéhyde prénylé (0.0046 mole) dissous aussi dans la pyridine (le volume total de la pyridine ne devrait pas dépasser 30 mL) est aussi mélangé avec la solution d'acide malonique. 1 mL de piperidine est utilisé comme catalyseur.

Le mélange réactionnel ainsi obtenu est laissé à la température ambiante, sans agitation.

Pour les dérivés prénylés, le temps de la réaction est de trois semaines à la température ambiante. La réaction est suivie par CCM.

Pour les dérivés ayant le motif chromène, le mélange réactionnel est chauffé doucement, pour arriver à une température de 80°C. La réaction est maintenue à cette température pendant une heure. Un reflux de pyridine est maintenu encore 4 heures.

Le mélange final, refroidi à la température ambiante, est jeté dans une solution concentrée d'acide chlorhydrique glacé. C'est dans cette solution que l'acide cinnamique commence à cristalliser.

Si on n'obtient pas de cristaux, une extraction dans un solvant approprié peut être souvent utile (l'éther éthylique étant le plus indiqué). La phase organique est séchée sur MgSO_4 (ou Na_2SO_4). Après la filtration et l'évaporation du solvant on obtient l'acide cinnamique pur.

- Les rendements de cette réaction sont de 65%.

Réaction de déméthylation

Procédure générale

Dans un ballon tricol muni d'un réfrigérant, d'une entrée d'azote et d'un thermomètre, 0.0036 mole de produit méthylyé sont dissous dans 50-60 mL dichlorométhane sec, sous atmosphère d'azote, à -78°C. Le tribromure de brome (~15 mL) est ajouté, via une seringue, goutte à goutte, pour empêcher le chauffage du mélange réactionnel. La masse réactionnelle est maintenue plus de 5 heures à une température de -78°C, puis est laissée 24 heures à la température ambiante. La réaction est suivie par CCM.

Après l'hydrolyse finale, la phase organique est séparée et la phase aqueuse est extraite à l'éther. Pour une meilleure purification un lavage basique de la phase organique est recommandé.

La phase aqueuse (basique) est neutralisée et extraite à l'éther. Après elle est séchée sur MgSO_4 et le solvant évaporé. On obtient en final le produit déméthylé pur.

Le rendement de cette réaction est de 30%.

Synthèse du 2-chloro-2-méthyl-but-1 yne

Dans un ballon tricol équipé d'un réfrigérant ascendant, d'un thermomètre et d'une ampoule à brome 11,2 g CaCl_2 , 8 g CuCl_2 et 0,2 g Cu sont dissous dans 86 mL HCl froid. Une forte agitation est souvent nécessaire pour obtenir un mélange réactionnel homogène. Ensuite, la masse réactionnelle est refroidie à -15°C , puis on ajoute 20 mL de 2-méthyl-2-butyn-1-ol durant une heure. La réaction continue encore deux heures à une température en dessous de -10°C .

Les deux phases obtenues sont séparées, la phase organique est lavée avec une solution concentrée d'acide chlorhydrique glacé (3 x 20 mL). La phase organique est séchée sur MgSO_4 et le solvant évaporé.

Le dérivé chloré est distillé sur K_2CO_3 . Sa pureté est contrôlée par spectrométrie IR.

Il est souhaitable de l'utiliser immédiatement ou de le garder à une température comprise entre $0-5^\circ\text{C}$.

Le rendement de cette réaction est supérieur à 80%.

Réaction en catalyse en transfert de phase pour obtenir des phényléthers

Procédure générale

10 mmole de phénol sont dissous dans une solution basique (15 mmole NaOH dans 50 mL d'eau) qui contient 1 mmole de bromure de tetrabutylammonium. L'agent d'alkylation est

dissous dans 50 mL de dichlorométhane. Le mélange est agité à la température ambiante pendant 10-15 heures, en fonction du produit désiré.

L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince.

Les deux phases sont séparées, la phase aqueuse est extraite avec trois portions de dichlorométhane (~ 20 mL). Les phases organiques assemblées sont lavées avec une solution de soude 0.5 N (sauf pour le cas de la protection du groupement phénolique par le $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$; en ce cas le lavage est fait avec une solution diluée d'ammoniaque). La phase organique est séchée sur MgSO_4 (ou Na_2SO_4). Après filtration et évaporation du solvant on obtient le produit pur souhaité.

Les rendements de cette réaction sont supérieurs à 85%.

Réaction de cyclisation de l'éther allylique

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et pourvu d'un tube de garde, 1 mole d'éther allylique, dissous dans 5 mL diéthylaniline, est porté à reflux (218°C) pendant 2 heures. Après ce temps de reflux on laisse la réaction revenir à la température ambiante.

Le mélange réactionnel est dissous dans l'éther éthylique. La phase organique est lavée plusieurs fois avec une solution diluée d'acide sulfurique (le lavage peut être suivi par CCM).

La phase organique est séchée sur MgSO_4 (ou Na_2SO_4). Après la filtration et l'évaporation du solvant on obtient le produit cyclisé.

Les rendements de cette réaction sont supérieurs à 80%.

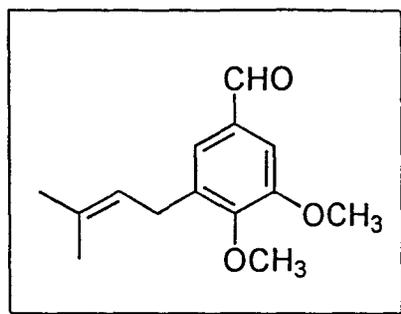
Les spectres de RMN du proton et du carbone ont été enregistrés sur un appareil BRUKER AM 300 (utilisant le tétraméthylsilane comme référence interne).

Les spectres de masse ont été enregistrés sur un spectromètre RIBER 10 - 10.

Les spectres IR ont été enregistrés sur in appareil PERKIN 881.

Des feuilles plastiques pour CCM : gel de silice 60 F254 (épaisseur de la couche 0,2mm) ont été utilisées.

La silice MERCK, KIESELGEL 60, 70-230 mesh a été utilisée pour la chromatographie sur colonne.



*Aldéhyde 3,4 diméthoxy - 5 - (- 3 - méthyl - 2 - ényl) - benzoïque
(Ald I)*

RMN ^1H (CDCl_3)

1,65 ppm (s, 6 H - 2 x CH_3); 3,3 ppm (d, 2H, $\text{Ph-CH}_2=\text{CH}$, $^3\text{J}=7,34$ Hz); 3,95 ppm (s, 6 H, 2 x OCH_3); 5,16 ppm (bt, 1H); 7,20 ppm (s, 2 H_{arom}); 9,74 ppm (s, 1H - CHO).

RMN ^{13}C (CDCl_3)

17,6 ppm (q, CH_3); 25,6 ppm (q, CH_3); 28,4 ppm (t, CH_2); 55,6 ppm (q, CH_3); 60,3 ppm (q, CH_3); 108,3 ppm (d, CH_{arom}); 121,9 ppm (d, CH); 125,9 ppm (d, CH_{arom}); 132,1 ppm (s, C); 133,0 ppm (s, C); 135,9 ppm (s, C); 152,6 ppm (s, C); 153,2 ppm (s, C); 191,3 ppm (d, CH).

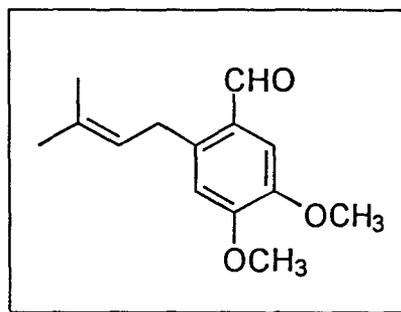
Spectre de masse

m/z : 234 (M^+ , 40); 219 (M^+-CH_3 , 27); 150 (100).

IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$)

2900 - 2790 ($\nu_{\text{C-H}}$); 1695 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1590 ($\nu_{\text{C-H}}$); 1460 ($\nu_{\text{C-Carom}}$).

R_F = 0,58 (AcOEt : Ether de pétrole = 2:1)



*Aldéhyde 3,4 diméthoxy - 6 - (- 3 - méthyl - 2 - ényl) - benzoïque
(Ald II)*

RMN ¹H (CDCl₃)

1,70 ppm (s, 6 H - 2 x CH₃); 3,70 ppm (d, 2H, Ph-CH₂=CH, ³J=6,95 Hz); 3,95 ppm (s, 6 H, 2 x OCH₃); 5,21 ppm (bt, 1H); 6,70 ppm (s, 1 H_{arom}); 7,35 ppm (s, 1 H_{arom}); 10,17 ppm (s, 1H - CHO).

RMN ¹³C (CDCl₃)

18,0 ppm (q, CH₃); 25,6 ppm (q, CH₃); 30,4 ppm (t, CH₂); 55,9 ppm (q, OCH₃); 56,0 ppm (q, OCH₃); 110,6 ppm (d, CH); 112,4 ppm (d, CH); 123,1 ppm (d, CH); 126,6 ppm (s, C); 132,7 ppm (s, C); 140,0 ppm (s, C); 147,6 ppm (s, C); 153,8 ppm (s, C); 190,1 ppm (d, CHO).

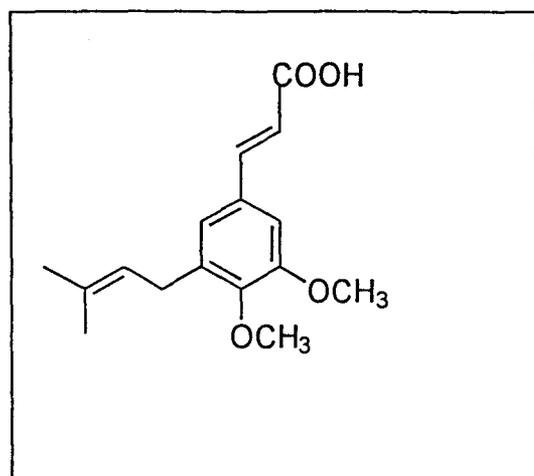
Spectre de masse

m/z: 234 (M⁺, 100), 205 (M⁺-CHO, 62).

IR (ν cm⁻¹)

3000 - 2800 (ν_{C-H}); 1680 (ν_{C=O}); 1510 (ν_{C-H}); 1485 (ν_{C-Arom}).

R_F = 0,64 (AcOEt : Ether de pétrole = 2:1)



*Acide 3 - [5 - (3 - méthylbut - 2 - ényl) - 3,4 - diméthoxyphényl] prop -2- énoïque
(PDC)*

RMN ¹H (CDCl₃)

1,75ppm (s, 6 H -2 x CH₃); 3,45 ppm (d, 2H, Ph-CH₂=CH, ³J=7,34 Hz); 3,85 ppm (s, 6 H, 2 x OCH₃); 5,25 ppm (bt, 1H); 6,30 ppm (dd, 1H, ³J = 15,90 Hz); 6,9 ppm (dd, 2H_{arom.}, ⁴J = 1,93 Hz); 7,70 ppm (dd, 1H, ³J = 15,89 Hz);

RMN ¹³C (CDCl₃)

17,7 ppm (q, CH₃); 25,7 ppm (q, CH₃); 28,3ppm (t, CH₂); 55,6 ppm (q, OCH₃); 60,4 ppm (q, OCH₃); 109,1 ppm (d, CH_{arom.}); 115,8 ppm (d, CH); 122,2 ppm (d, CH); 123,2 ppm (d, CH_{arom.}); 129,6 ppm (s, C); 133,1 ppm (s, C); 136,1 ppm (s, C); 147,4 ppm (d, CH); 148,9 ppm (s, C); 152,9 ppm (s, C); 172,6 ppm (s, CH);

Structure confirmée par DEPT; Correlation C-H et C-C

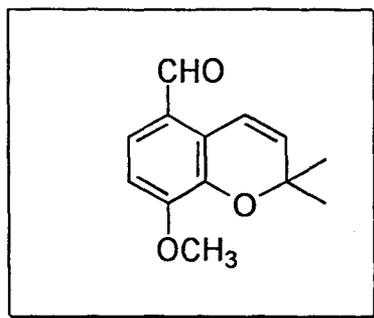
Spectre de masse

m/z: 276 (M⁺, 100); 206 (M⁺-CH=CH-COO, 27).

IR (ν cm⁻¹)

3600-2400 (bande large ν_{OH} et ν_{CH}); 1700 (ν_{C=O}); 1630 (ν_{C=C}); 1410 (ν_{C-C arom.}).

R_F = 0,56 (AcOEt : Ether de petrole = 2:1)



*5 - formyl - 8 - méthoxy - 2,2 diméthyl chromène
(AldCD)*

RMN ¹H (CDCl₃)

1,47 ppm (s, 6 H -2x CH₃); 3,90 ppm (s, 3 H - OCH₃); 5,80 ppm (d, 1H, ³J = 10,13 Hz); 6,87 ppm (d, 1H_{arom} ³J = 8,49 Hz); 7,30 ppm (d, 1H_{arom} ³J = 8,49 Hz); 7,44 ppm (d, 1H ³J = 10,14 Hz); 9,96 ppm (s, 1H - CHO)

RMN ¹³C (CDCl₃)

13,2 ppm (q, CH₃); 21,0 ppm (q, CH₃); 27,5 ppm (q, CH₃); 56,1 ppm (d, CH); 62,2 ppm (d, CH); 110,3 ppm (d, CH); 118,8 ppm (d, CH); 125,0 ppm (s, C); 128,5 ppm (s, C); 133,5 ppm (s, C); 141,0 ppm (s, C); 148,0 ppm (s, C); 192,0 ppm (d, CH);

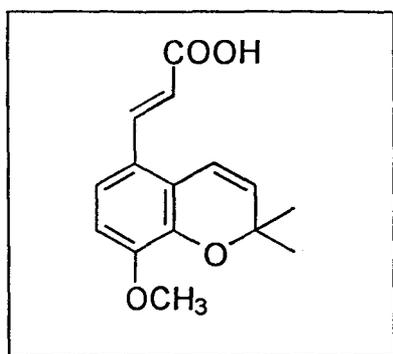
Spectre de masse

m/z: 218 (M⁺, 13,77); 203 (M⁺-CH₃, 100).

IR (ν cm⁻¹)

3100 - 2700 (ν_{C-H}); 1690 (ν_{C=O}); 1495 (ν_{C-Carom}).

R_F = 0,59 (AcOEt : Ether de pétrole = 2:1)



*5 - carboxyéthényl - 8 - méthoxy - 2,2 diméthyl chromène
(ACD)*

RMN ¹H (CDCl₃)

1,50 ppm (s, 6 H -2x CH₃); 3,88 ppm (s, 3 H - OCH₃); 5,78 ppm (d, 1H, ³J = 10,04 Hz); 6,28 ppm (d, 1H, ³J = 15,72 Hz); 6,70 ppm (d, 1H, ³J = 10,09 Hz); 6,80 ppm (d, 1H_{arom} ³J = 8,68 Hz); 7,17 ppm (d, 1H_{arom} ³J = 8,64 Hz); 8,01 ppm (d, 1H, ³J = 15,72 Hz).

RMN ¹³C (CDCl₃)

15,2 ppm (q, CH₃); 25,0 ppm (q, CH₃); 27,3 ppm (q, CH₃); 56,1 ppm (d, CH); 75,6 ppm (d, CH); 111,8 ppm (d, CH); 117,02 ppm (d, CH); 118,5 ppm (d, CH); 119,6 ppm (d, CH); 132,5 ppm (s, C); 142,9 ppm (s, C); 150,0 ppm (s, C); 155,3 ppm (s, C); 158,9 ppm (s, C); 172,0 ppm (s, C).

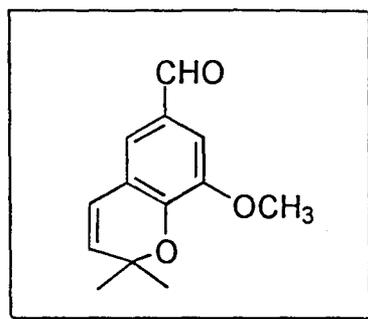
Spectre de masse

m/z: 260 (M⁺, 19); 245 (M⁺-CH₃, 100).

IR (ν cm⁻¹)

3600 - 2890 (bande large, ν_{O-H} et ν_{C-H}); 1690 (ν_{C=O}); 1490 (ν_{C-Arom}).

R_F = 0,50 (AcOEt : Ether de pétrole = 2:1)



*6 - formyl - 8 - méthoxy - 2,2 diméthyl chromène
(AldCS)*

RMN ^1H (CDCl_3)

1,44 ppm (s, 6 H -2x CH_3); 3,85 ppm (s, 3 H - OCH_3); 5,62 ppm (d, 1H, $^3J = 9,90$ Hz); 6,28 ppm (d, 1H, $^3J = 9,90$ Hz); 7,09 ppm (d, 1H_{arom} $^3J = 1,72$ Hz); 7,24 ppm (d, 1H_{arom} $^3J = 1,69$ Hz); 9,78 ppm (s, 1H, CHO).

RMN ^{13}C (CDCl_3)

13,2 ppm (q, CH_3); 20,9 ppm (q, CH_3); 28,3 ppm (q, CH_3); 56,1 ppm (d, CH); 61,7 ppm (d, CH); 110,52 ppm (d, CH); 121,4 ppm (d, CH); 123,3 ppm (s, C); 129,4 ppm (s, C); 131,1 ppm (s, C); 147,8 ppm (s, C); 148,8 ppm (s, C); 191,2 ppm (d, CH);

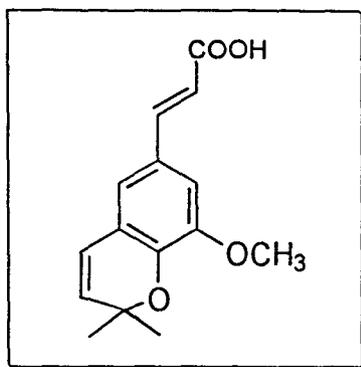
Spectre de masse

m/z : 218 (M^+ , 16); 203 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 100).

IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$)

3000 - 2800 ($\nu_{\text{C-H}}$); 1695 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1460 ($\nu_{\text{C-Carom}}$).

$R_F = 0,62$ (AcOEt : Ether de pétrole = 2:1)



*6 - carboxyéthényl - 8 - méthoxy - 2,2 diméthyl chromène
(ACS)*

RMN ^1H (CDCl_3)

2,10 ppm (s, 6 H -2x CH_3); 3,90 ppm (s, 3 H - OCH_3); 5,60 ppm (d, 1H, $^3\text{J} = 9,86$ Hz); 6,22 ppm (d, 1H, $^3\text{J} = 9,62$ Hz); 6,25 ppm (d, 1H, $^3\text{J} = 15,72$ Hz); 6,83 ppm (s, 1 H_{arom}); 6,94 ppm (s, 1 H_{arom}); 7,66 ppm (d, 1H, $^3\text{J} = 15,83$ Hz); 11,58 ppm (s, 1 H, COOH)

RMN ^{13}C (CDCl_3)

15,1 ppm (q, CH_3); 25,6 ppm (q, CH_3); 28,1 ppm (q, CH_3); 30,2 ppm (d, CH); 56,2 ppm (d, CH); 65,9 ppm (d, CH); 111,2 ppm (d, CH); 114,4 ppm (d, CH); 120,2 ppm (d, CH); 121,7 ppm (s, C); 123,5 ppm (s, C); 131,4 ppm (s, C); 147,2 ppm (s, C); 149,2 ppm (s, C); 175,0 ppm (s, C).

Spectre de masse

m/z : 260 (M^+ , 18); 245 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 100).

IR ($\nu \text{ cm}^{-1}$)

3600 - 2500 (bande large, $\nu_{\text{O-H}}$ et $\nu_{\text{C-H}}$); 1690 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1420 ($\nu_{\text{C-Carom}}$).

$R_F = 0,54$ (AcOEt : Ether de pétrole = 2:1)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Manito, P. *Biosynthesis of Natural Products* édit., Ellis Horwood Limited, England 1981.
- (2) Birch, A.J.; Eliot, P.; Penfold, A.R. *Aust. J. Chem* 1954, 7, 169.
- (3) Ollis, W.D.; Sutherland, I.O. *Isoprenoid Units in Natural Phenolic Compounds in Chemistry of Natural Phenolic Compounds* édit., Pergamon Press, Oxford 1961.
- (4) Molyneaux, R.J.; Jurd, L. *Tetrahedron* 1970, 26, 4743.
- (5) Ahluwalia, V.K.; Arora, K.K.; Jolly, R.S. *Indian Journal of Chemistry* 1982, 21 B, 629.
- (6) Chowdhury, K.P. *J. Chem. Research* 1990, S, 390.
- (7) Glüsenkamp, K.H.; Büchi, G. *J. Org. Chem.* 1986, 51, 4481.
- (8) Badea, I.; Cotellet, P.; Cateau J.P. *Synth. Commun.* 1994, 24, 2011.
- (9) Saà, J.M., Llobera A.; Garcia-Raso, A.; Costa, A.; Deyà, M.P. *J. Org. Chem.* 1988, 53, 4263.
- (10) Sinhababu, A.K.; Borchardt, R.T. *J. Org. Chem.* 1983, 48, 1941.
- (11) Paulis, T.; Smith, H.E. *Synth. Commun.* 1991, 21, 1091.
- (12) McKillop, A.; Fiaud, J.C.; Hug, R.P. *Tetrahedron* 1974, 30, 1379.
- (13) Johnson, J.R. dans *Organic reactions - Vol I*, édit. Adams, Wiley, 1942, 210.
- (14) McOmie, J.F.W.; Watts, M.L.; West, D.E. *Tetrahedron* 1967, 24, 2289.
- (15) Crombie, L.; Jamieson, S.V. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* 1982, 1467.
- (16) Schwedt, G. *Atlas de Poche des Methodes d'Analyse*, édit., Médecine - Sciences Flammarion, Paris, 1993.
- (17) Rosset, R.; Caude, M.; Jardy, A.; *Manuel Pratique de Chromatographie en Phase Liquide* édit., Masson, Paris 1990.
- (18) Günther, H. *La spectroscopie de RMN* édit., Masson, Paris 1994.
- (19) Skoog, D.A.; Leary, J.J. *Principles of Instrumental Analysis* édit., Saunders College Publishing, England, 1992.

CHAPITRE II

Caractérisation analytique des nouveaux composés synthétisés

RELATION STRUCTURE - ACTIVITE (QSAR)

En 1868 Crum-Brown and Forster¹ ont postulé qu'il existe une relation mathématique entre la structure d'une molécule et son activité pharmacodynamique.

En 1962 Corwin Hansch¹ a essayé de quantifier les effets du changement des substituants sur l'activité biologique d'une molécule. Il en est sorti le concept structure-réactivité (QSAR "*quantitative structure-activity relationship*").

Le concept de "*drug design*" est basé sur le fait que les propriétés biologiques d'un composé sont fonction de ses paramètres physico-chimiques.

Il y a trois facteurs importants:

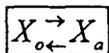
- les effets électroniques - quantifiés par *l'équation de Hammett*;
- les effets stériques - quantifiés par *l'équation de Taft*;
- la lipophilie - quantifiée par *l'équation de Hansch*;

Dans ce travail nous nous sommes intéressés exclusivement à *la lipophilie* des nouvelles molécules synthétisées.

En chromatographie de partage liquide-liquide² il est d'un grand intérêt de pouvoir classer les solutés en fonction de leur affinité pour l'eau (*hydrophilie*) ou pour le solvant organique constituant la phase mobile (*lipophilie ou hydrophobie*).

Une manière d'y parvenir consisterait à disposer des valeurs des coefficients de partage des différents solutés entre l'eau et le solvant organique considéré.

Pour un équilibre de partage général:



a - phase aqueuse;

o - phase organique;

le coefficient de partage **P** est défini par:

$$P = \frac{c_o}{c_a}$$

c_o , c_a : concentration du soluté à l'équilibre dans les deux phases:
organique (*o*) ou aqueuse (*a*)

Un soluté pour lequel **P** est grand sera considéré comme lipophile.

Il est possible de calculer *a priori* la valeur des coefficients de partage **P**, donc d'estimer la lipophilie d'un soluté quelconque, grâce à la méthode développée par Rekker³.

Evaluation du pouvoir hydrophobe

Selon Rekker³, une molécule peut être divisée en fragments élémentaires possédant chacun un pouvoir hydrophobe f_i . Le logarithme du coefficient de partage **P** s'obtient en additionnant les constantes f_i de tous les fragments de la molécule et en tenant compte de quelques effets intramoléculaires qui conduisent à ajouter pour chacun d'eux une contribution supplémentaire f'_j à la somme des f_i .

Pour la valeur logarithmique de **P** on a l'équation:

$$\log P = \sum_i f_i + \sum_j f'_j$$

Chaque terme f'_j est le produit d'une constante C_M : par un facteur variable k_j . La valeur de k_j est fixée par des règles empiriques.

L'expression de **log P** est finalement:

$$\log P = \sum_i f_i + C_M \sum_j k_j$$

Les valeurs f_i ont été répertoriées pour différents systèmes eau-solvant. Elle sont les plus nombreuses pour le système eau-octanol, en raison des analogies des propriétés physico-chimique avec les membranes biologiques.

Pour la détermination expérimentale du coefficient de partage, nous avons utilisé des solutions de concentration $2 \cdot 10^{-3}$ mole.L⁻¹ dans octanol.

Dans un entonnoir cylindrique avec robinet à clé en verre avec bouchon à rodage normalisé nous avons introduit :

- 0,4 mL solution $2 \cdot 10^{-3}$ mole.L⁻¹ dans octanol de composé dont le coefficient de partage sera déterminé;
- 9,6 mL octanol;
- 20 mL eau.

L'entonnoir est fortement agité avec un dispositif qui permet entre 45 et 50 renversement par minute. L'agitation a duré pour chaque détermination 25 minutes. Le temps de repos a été de 30 minutes. Ensuite les deux phases sont séparées et on analyse la phase organique par spectrométrie UV-VIS en utilisant une droite de calibration ($y = 0,17x - 0,13$).

Les résultats obtenus pour chaque produit testé sont présentés dans le tableau II.1. Nous présentons pour comparaison les valeurs de $\log P$, calculées à l'aide des équations établies par Rekker.

Tableau II.1

COMPOSE	log P	
	calculé	déterminé expérimental
PDC	4,27	3,14
ACD	2,86	0,90
ACS	2,86	1,45
CIN	2,13	2,13

CONCLUSION

Les molécules synthétisées sont plus lipophiles que l'acide caféïque. De plus il y a une bonne concordance entre le coefficient de partage déterminé et celui calculé pour la molécule du PDC.

Les résultats expérimentales obtenus met en évidence que les molécules synthétisés sont plus lipophiles que l'acide cinnamique. Nous n'avons aucune référence sur la valeur expérimentale du $\log P$ pour l'acide caféïque. On pourrait supposer que la présence du motif catéchol diminue la lipophilie de cette molécule (cette affirmation est soutenue par la valeur du $\log P$ calculée).

Le PDC se montre comme une molécule très lipophile.

On retrouve pour l'acide ACS une valeur expérimentale de 1,45 tandis que la valeur calculée est de 2,86. La valeur trouvée expérimentalement situe l'ACS parmi les molécules lipophiles.

Par contre, pour l'ACD $\log P$ déterminé est de 0,9. Le fait pourrait être expliqué par les différences structurales entre l'ACD et ACS. Il est donc clair que la constante C_M est très importante du fait qu'elle tient compte des toutes les interactions intra et intermoléculaires pour le composé dont la valeur du $\log P$ est calculé.

SPECTROMETRIE D'ABSORPTION UV-VIS

ORIGINE ET NATURE DU SPECTRE

Toute molécule possède trois types d'énergie interne: rotationnelle, vibrationnelle et électronique⁴.

Dans la gamme ultraviolet-visible, les transitions interviennent entre états d'énergie électronique. Les spectres électroniques des atomes sont constitués habituellement de raies fines puisque les atomes possèdent relativement peu d'états électroniques et leurs séparations sont importantes.

Dans les molécules, chaque état électronique est associé à un certain nombre de niveaux vibrationnels, chacun d'entre-eux est à son tour décomposé en niveaux rotationnels très proches les uns des autres. C'est pourquoi un grand nombre de transitions électroniques sont possibles, de l'état fondamental à un état électronique plus élevé dit "excité" (Figure II.1)

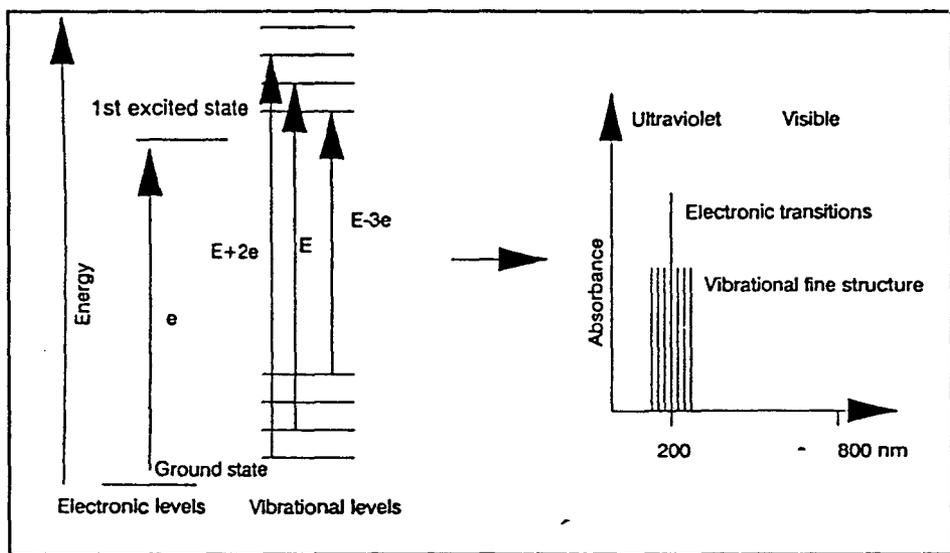


Figure II.1 Génération d'un spectre électronique

Cela explique que les bandes d'absorption soient larges; elles ont parfois une structure fine, due aux interactions vibrationnelles.

En spectrométrie d'absorption UV-VIS on mesure l'absorption de la lumière de fréquence ν par un échantillon de concentration c et d'épaisseur l . Selon les cas, le composé qui absorbe est ou bien en solution ou bien à l'état pur (phase gaz).

Si I_0 est l'intensité de la lumière incidente et I celle de la lumière émergente, on définit l'absorbance de l'échantillon par:

$$A = \frac{I_0}{I}$$

Dans la mesure où les interactions entre les molécules du composé étudié sont négligeables (gaz parfait ou solution diluée), l'absorbance suit la loi de Beer-Lambert:

$$A = \epsilon cl$$

où ϵ - est le coefficient d'extinction molaire (constante caractéristique de la molécule pour une longueur d'onde donnée);
 c - la concentration de l'espèce absorbante en solution;
 l - la longueur du trajet optique au travers du milieu absorbant.

Les transitions entre deux niveaux d'énergie s'étendent dans une zone de fréquence plus ou moins large de part et d'autre de la fréquence moyenne. L'intensité intégrée A de la bande étudiée est définie par l'intégrale suivante, prise sous cette zone:

$$A = \int \epsilon(\nu) d\nu$$

Une bande d'absorption est donc caractérisée par sa position (ν ou λ) et par son intensité.

L'interprétation des spectres UV-VIS est souvent difficile. Pour bien comprendre la nature du spectre électronique d'une molécule organique, il faut prendre en considération la nature des électrons de valence qu'elle contient et les possibilités de transitions entre différents niveaux énergétiques.

Si l'interaction entre les électrons σ et π peut être ignorée, celle entre les électrons n et π ou π et π^* sont considérables.

Une classification des transitions électroniques peut-être faite⁵ (Tableau II.2) :

Tableau II.2

TRANSITION	DESCRIPTION	REGION DU SPECTRE ELECTRONIQUE
$N \rightarrow V$	D'une orbitale de liaison de l'état fondamental à une orbitale d'énergie plus haute a) $\sigma \rightarrow \sigma^*$ b) $\pi \rightarrow \pi^*$	UV sous vide ex. : méthane à 125 nm UV ex. : éthylène à 180 nm; benzène à 203 nm
$N \rightarrow Q$	D'une orbitale non-liante vers une orbitale d'énergie plus élevée a) $n \rightarrow \pi^*$ b) $n \rightarrow \sigma^*$	UV proche ex. : acétone à 277 nm UV éloigné ex. : acétone à 190 nm
$N \rightarrow R$	D'une orbitale de l'état fondamental vers une orbitale d'énergie très élevée, dans la direction de l'ionisation de la molécule	UV sous vide

CARACTERISATION DE SPECTRE UV DU PDC

Etant donné la nouveauté apportée par sa structure, qui intègre à la fois le motif de l'acide cafféique et le groupement prényle, nous nous sommes intéressés plus particulièrement dans nos études au comportement du PDC.

SIMULATION DU SPECTRE UV

Nous avons utilisé la banque de données CAChe 1992.

Les géométries ont été optimisées par la méthode MM "Augmente Parameters".

Des calculs mécano-quantiques par la méthode AM1 (méthode semiempirique de calcul avec paramétrisation avancée) ont été utilisés pour obtenir le spectre simulé UV-VISIBLE.

Nous avons pris en considération 9 interactions de configuration.

Dans la Figure II.2 nous présentons le modèle de la géométrie optimisée du PDC .

Un diagramme d'énergie (Figure II.3) confirme la structure proposée pour le PDC.

A partir de la géométrie ainsi optimisée, un spectre simulé UV-VISIBLE a pu être obtenu (Figure II.4).

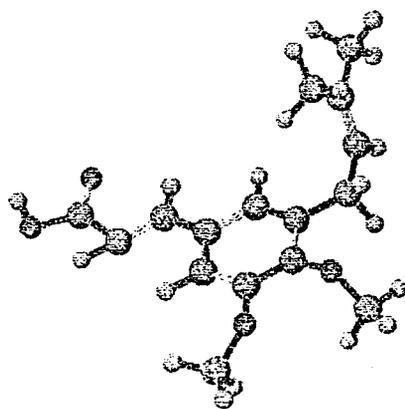


Figure II.2 Structure du PDC optimisée par CAChe

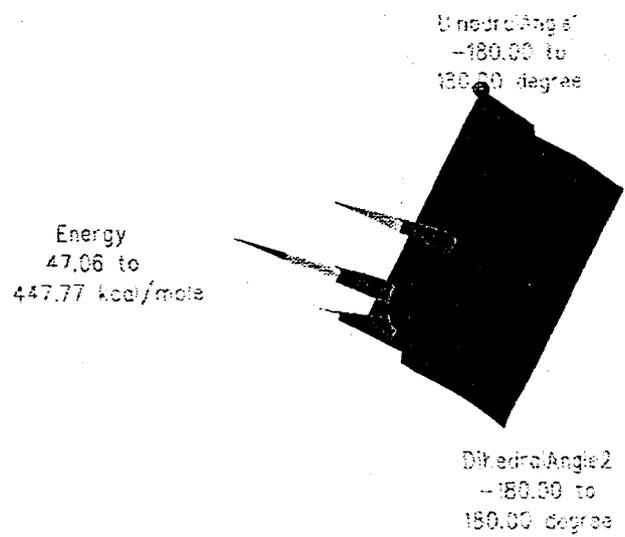


Figure II.3 Diagramme d'énergie pour le PDC
en trois dimensions

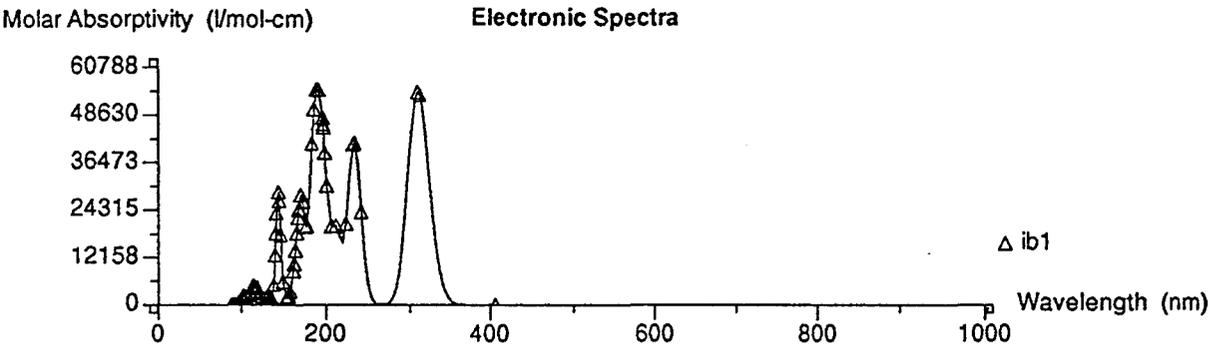


Figure II.4 Spectre UV - VISIBLE simulé pour le PDC

INFLUENCE DES SUBSTITUANTS

Pour pouvoir comprendre et expliquer les spectres UV enregistrés pour nos composés, nous nous sommes rapportés tout d'abord au spectre d'absorption du benzène⁵. Celui présente deux bandes d'absorption intenses vers $\lambda = 180$ nm ($\epsilon_{\max} \sim 47000$) et $\lambda = 200$ nm ($\epsilon_{\max} \sim 7000$) et une bande de faible intensité vers $\lambda = 260$ nm ($\epsilon_{\max} \sim 220$). Les trois bandes d'absorption sont associées aux électrons π et sont très affectées par les substituants sur le noyau benzénique. Nous avons mis dans le Tableau II.3 quelques exemples illustrant cette affirmation⁵.

Tableau II.3

R	200 nm	ϵ	260 nm	ϵ
H	203,5	7400	254	204
OH	210,5	6200	270	1450
OCH ₃	217,0	6400	269	1480
COOH	230,0	11600	273	970
CH=CH ₂	244,0	12000	282	450

Nous nous sommes rapportés aux spectres enregistrés pour des oléfines dans la région lointaine du domaine U.V⁵. A l'exception de l'éthylène, les autres composés présentent une bande d'absorption, avec un maximum dans la région de λ comprise entre les valeurs 172 nm-194 nm ($\epsilon_{\max} \sim 100000$). Ce domaine de longueurs d'onde est corrélé avec des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$, dues aux doubles liaisons. Pour des raisons analytiques, les oléfines peuvent être groupées en fonction de nombre des groupes alkyl qui substitue les atomes impliqués dans la double liaison. Nous présentons dans la Figure II.5 les spectres enregistrés pour des différentes oléfines, dans le domaine de l'UV-lointain.

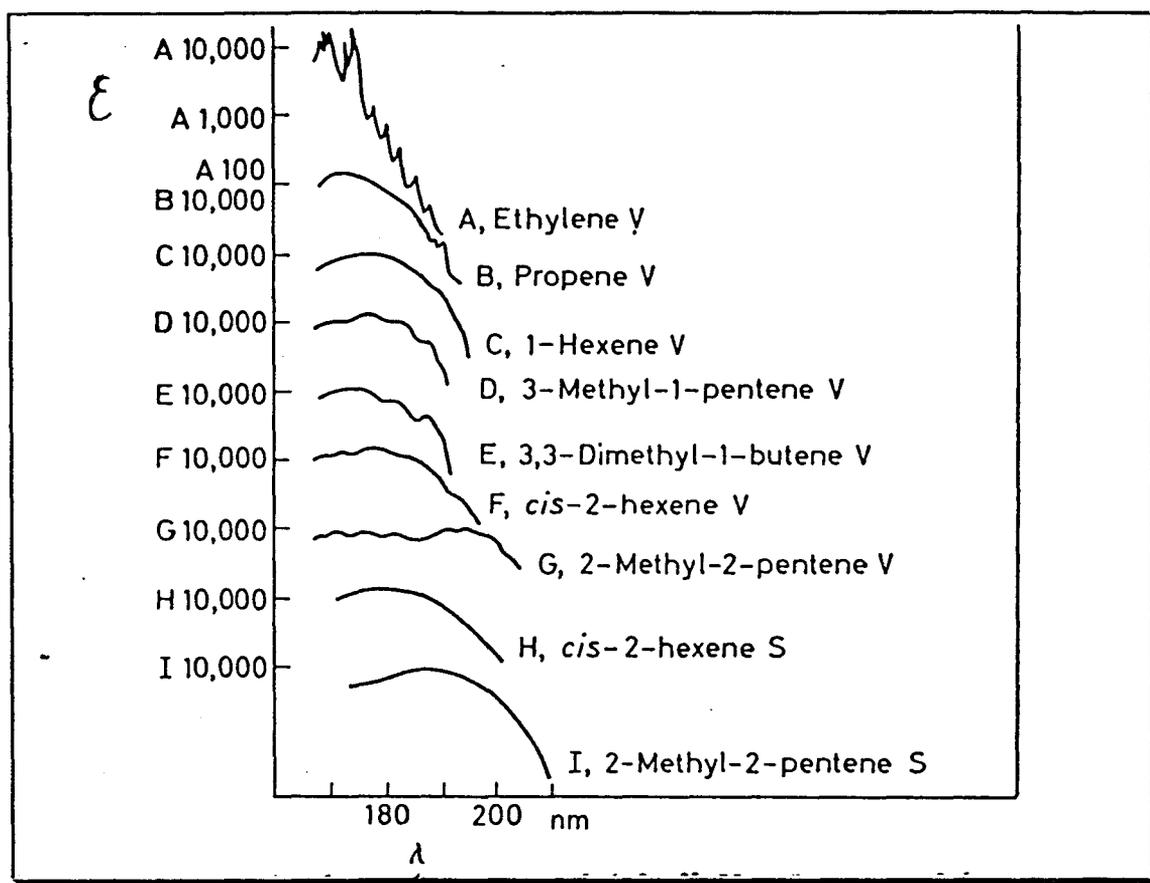


Figure II.5 Spectres des oléfines

V : phase gaz; S : solution

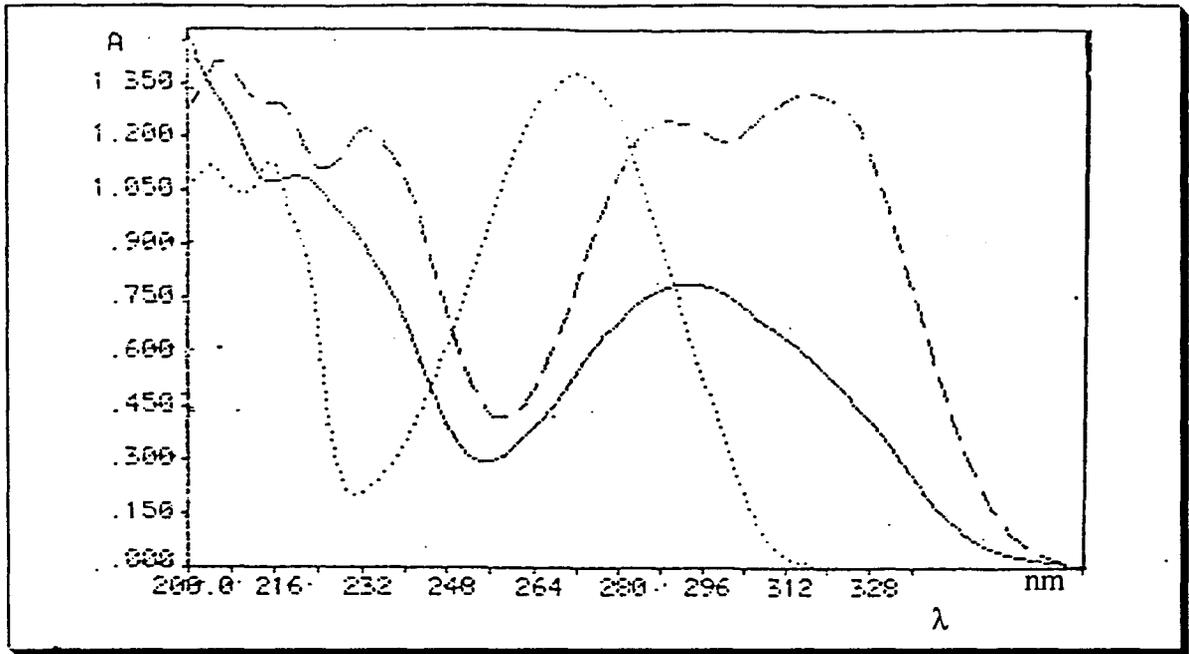
Nous avons enregistré les spectres UV-VIS pour l'acide cinnamique, l'acide 3,4 diméthoxy cinnamique et pour le PDC. Le choix de l'acide cinnamique et de l'acide 3,4 diméthoxycinnamique a été déterminé par la proximité de leur structure avec celle du PDC.

On peut suivre de cette façon, l'influence des substituents sur les bandes caractéristiques du benzène.

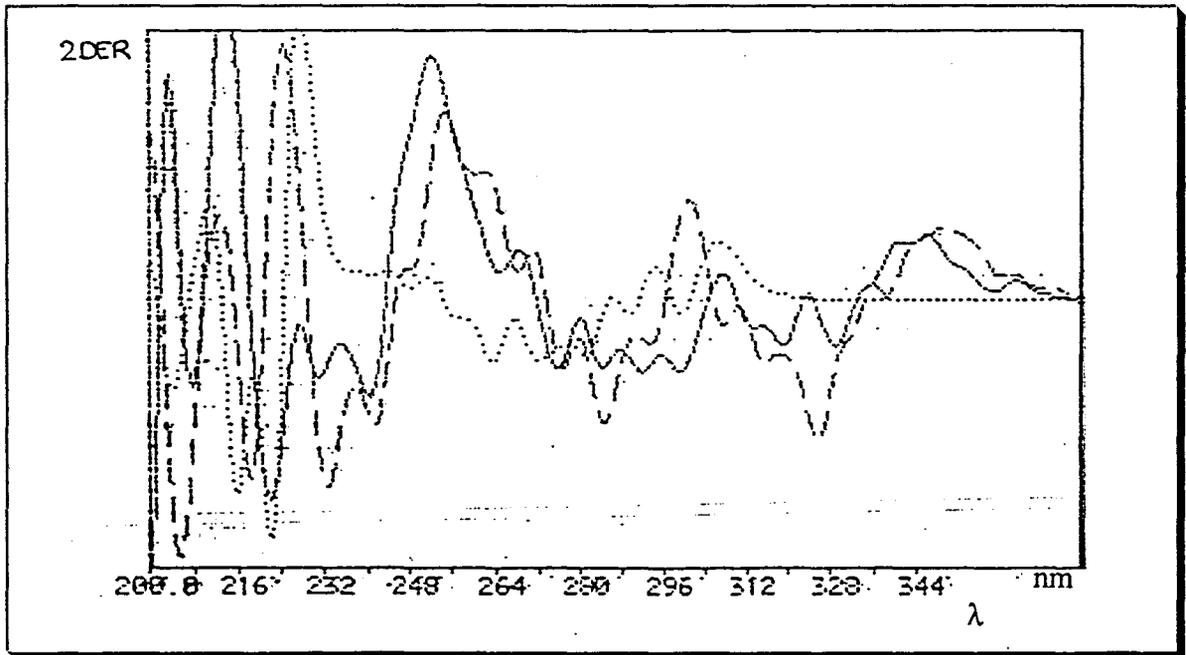
Pour chaque composé, une solution mère de 10^{-3} mole.L $^{-1}$ dans l'éthanol pour la spectroscopie a été utilisée. Les essais ont été préparés comme suit:

- 1 mL de solutions mère 10^{-3} mole.L $^{-1}$ a été mis dans une fiole jaugée, complétée à un volume final de 10 mL avec de l'éthanol à 95%.
- le témoin contient seulement de l'éthanol.

Les spectres sont présentés dans la Figure II.6.



a) d'ordre 0
 CIN
 - . - . - DMC
 ——— PDC



b) 2° dérivée
 CIN
 - . - . - DMC
 ——— PDC

Fig.II. 6 Variation de l'absorbance en fonction de λ

Nous nous sommes rapportés au spectre du benzène⁵ pour pouvoir expliquer les résultats obtenus.

La substitution avec des groupements insaturés conjugués détermine un déplacement de la bande d'absorption du benzène de 260 nm vers longueurs d'ondes plus grandes. Le spectre de l'acide cinnamique présente une bande d'absorption importante ($\epsilon = 13782$) à une longueur d'onde de 272 nm.

En outre, des groupements auxochromes sur le noyau benzénique ont aussi un effet bathochrome sur la même bande d'absorption (celle située à 260 nm). On voit bien ce déplacement si on compare le spectre de l'acide 3,4 diméthoxy cinnamique à celui de l'acide cinnamique. De plus, pour l'acide 3,4 diméthoxycinnamique il s'agit, en effet, de deux bandes d'absorption avec des maxima à 290 nm et à 317 nm, dues aux deux groupements méthoxy situés en position méta et para par rapport au motif cinnamique.

Si on compare le spectre de l'acide 3,4 diméthoxy cinnamique au spectre de l'acide PDC on constate que la présence du groupement prényle en position 5 a ce qu'on appelle habituellement, un effet de nivellement sur les deux maxima : à 290 nm et 317 nm respectivement. Il y a aussi l'apparition d'une nouvelle bande, située vers 200 nm (l'appareil ne permet pas une étude en dessous de 200 nm). Le fait que l'absorbance est grande dans cette région nous donne la possibilité d'affirmer qu'elle est due certainement au groupement prényle), plus précisément à une interaction entre ses électrons π et les électrons π du système de l'acide 3,4 diméthoxy cinnamique.

Nous présentons également les spectres enregistrés en 2^o dérivée, qui peuvent nous renseigner sur la composition d'une bande d'absorption et qui nous donnent la possibilité de distinguer entre le bruit de fond et une bande d'absorption de faible intensité.

Les informations issues des spectres d'ordre 2 sont en train d'être valorisées à l'aide d'un programme de calcul. Celui nous permettra de préciser l'influence de chaque substituent sur les bandes caractéristiques du benzène.

Nous avons résumé les observations pour les trois composés dans le Tableau II.4 et nous avons également ajouté les deux bandes d'absorption du benzène (*2% méthanol en eau)⁵, pour une meilleure comparaison.

Tableau II.4

COMPOSE	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max}	$\lg\epsilon_{\max}$
CIN	272	13782	4,1393
	215	11241	4,0508
	204	13782	4,1393
DMC	317	13265	4,1227
	290	12427	4,0943
	233	12188	4,0859
	206	14123	4,1499
PDC	293	7901	3,8976
	220	10855	4,0356
BENZENE*	254	204	
	203,5	7400	

INFLUENCE DU SOLVANT

Les longueurs d'onde et les intensités des bandes d'absorption d'un composé dissous dans un solvant sont affectées et n'ont plus les mêmes valeurs lorsqu'on compare son spectre ainsi obtenu avec celui que l'on enregistre en phase gazeuse⁴ (Figure II.7).

Cette différence, entre le spectre en solution et celui à l'état gaz, est due à une perturbation entre l'état fondamental et l'état excité de la molécule, déterminée par des interactions solvant-soluté.

Les positions des bandes d'absorption dépendent de la nature du solvant. En général, les solvants polaires déplacent la position des bandes d'absorption et diminuent la structure vibrationnelle. Parmi les solvants polaires, les hydroxyliques ont l'effet le plus important. Par contre, les solvants non-polaires ne provoquent pas de déplacements des bandes dans le spectre U.V. Un spectre d'un composé organique dissous dans un solvant non-polaire a presque la même allure que son spectre en phase gazeuse.

Les influences du solvant et celles des substituants sur les bandes d'absorption ont été utilisées pour la première fois par Burawoy⁶ pour caractériser les transitions électroniques.

Kasha⁷ et Mc. Connell⁸ ont repris l'idée de Burawoy et ils ont suggéré qu'à partir d'une étude de l'effet du solvant sur le spectre d'absorption UV-VIS, on pouvait faire une distinction entre les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$. Les longueurs d'onde des bandes caractéristiques pour les transitions $n \rightarrow \pi^*$ sont déplacées vers des longueurs d'onde plus petites avec l'augmentation de la polarité du solvant. En solvants très polaires ces transitions sont complètement perturbées. Par contre, les bandes issues des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ sont déplacées vers des longueurs d'onde plus grandes. Cette affirmation est soutenue par l'étude de l'influence de la polarité du solvant sur le spectre de la pyrazine. Les bandes situées à des très grandes longueurs d'onde sont dues à des transitions $n \rightarrow \pi^*$ et celles situées à des valeurs de longueurs d'onde petite sont dues à des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$. Nous présentons dans la Figure II.8 le spectre de la pyrazine dans différents solvants⁵.

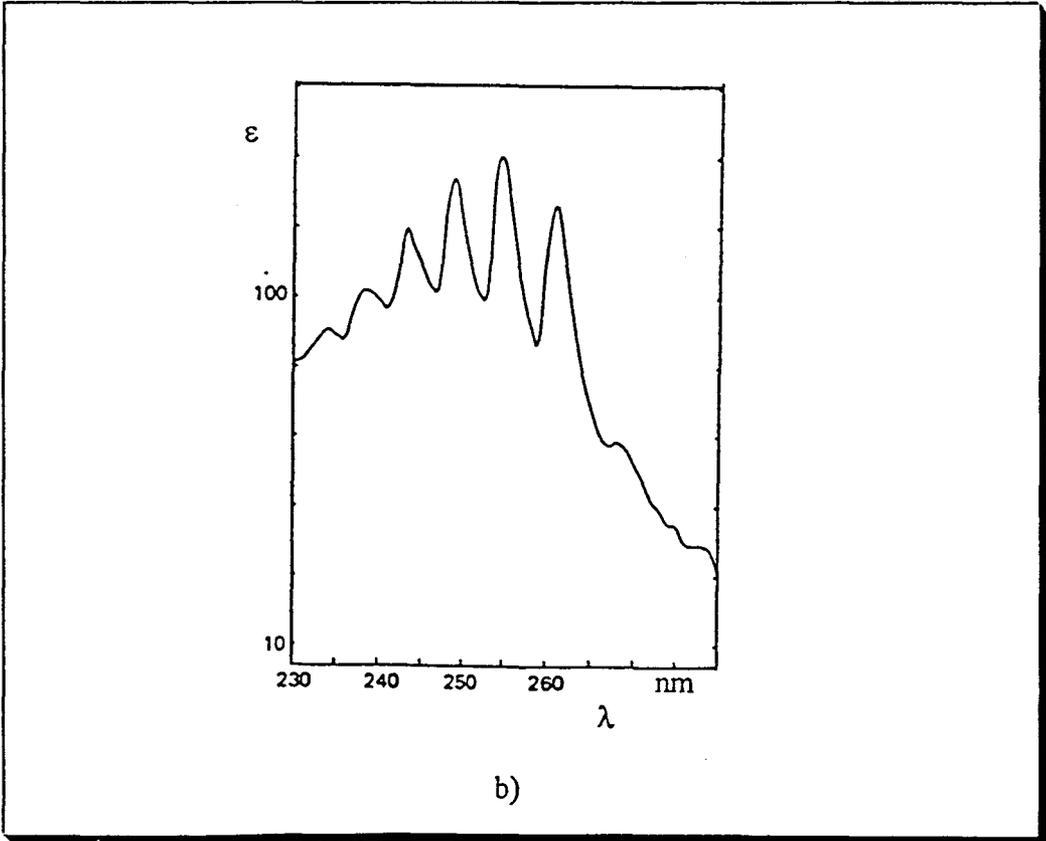
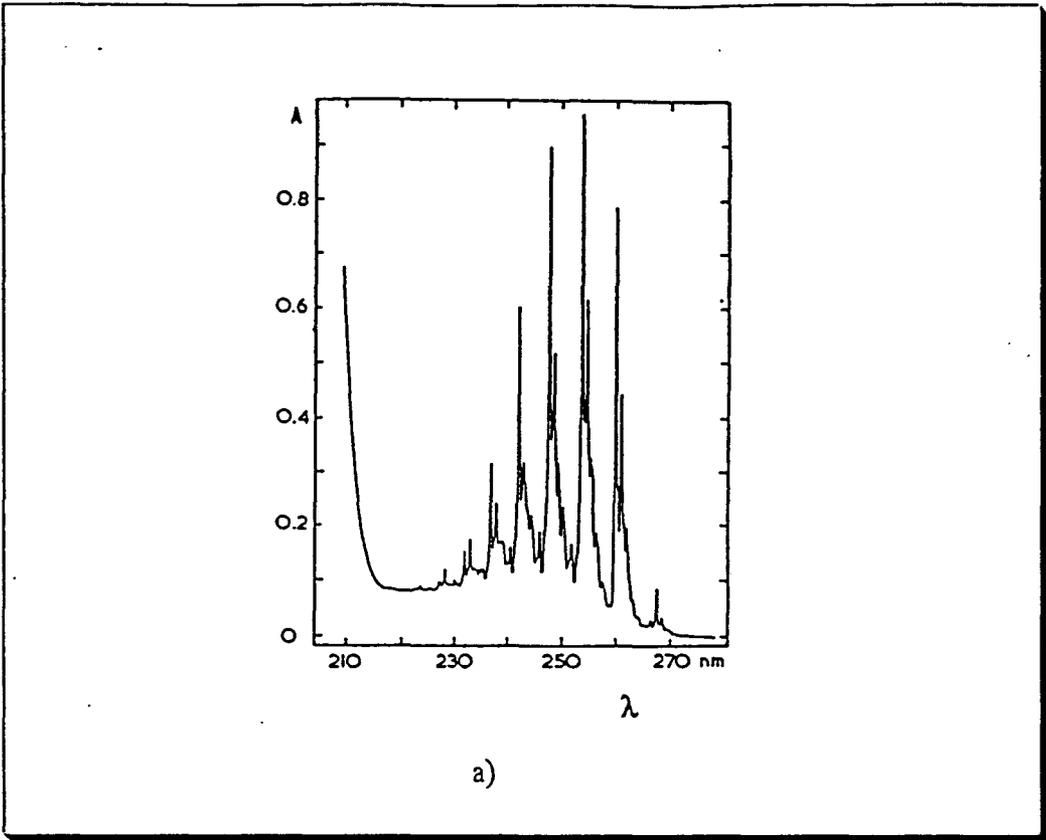


Figure II.7 Spectre du benzène
a) phase gaz; b) dans hexane

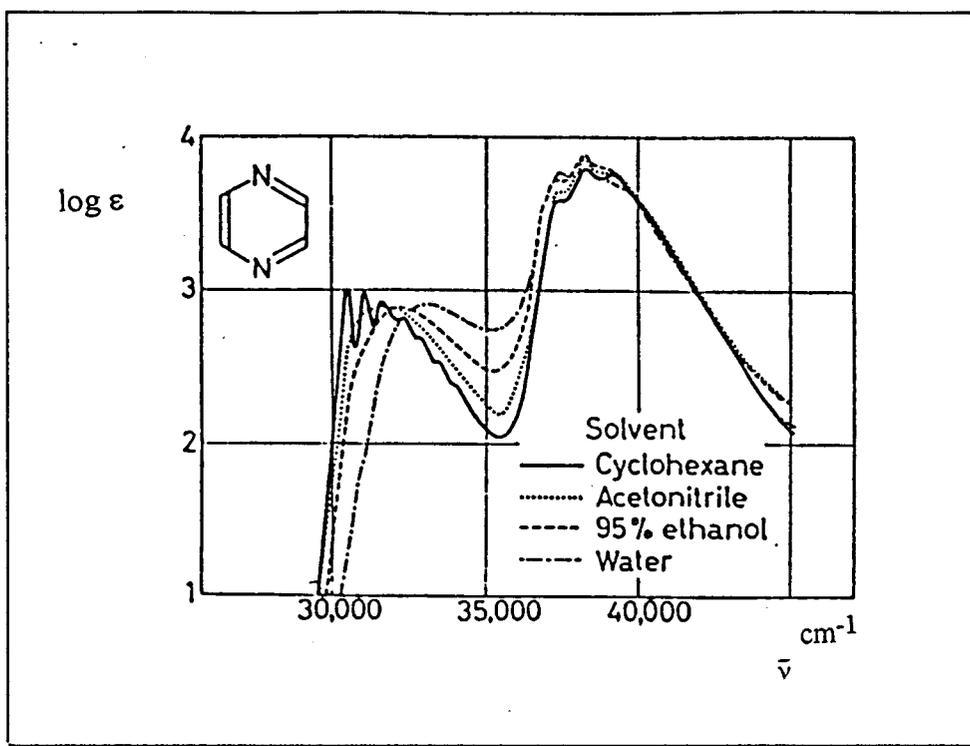


Figure II.8 Spectre de la pyrazine dans différents solvants

Nous avons envisagé dans notre étude une comparaison entre les spectre du PDC, enregistrés pour une gamme de solvants de polarités différentes.

Nous avons utilisé des solutions mère de PDC de concentration $2 \cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ dans chaque solvant étudié. Un volume de 0.1 mL solution $2 \cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ a été mis dans une fiole jaugée de 5 mL. Chaque fiole jaugée a été complétée avec le solvant approprié. La concentration finale en PDC a été de $4 \cdot 10^{-6}$ mole.L⁻¹. Les cuves utilisées ont eu un trajet optique de 1 cm. Les spectres ont été enregistrés sur un appareil Carl-Zeiss Jena et sont présentes dans la Figure II.9. Le spectre du PDC dans le 1-octanol a été également enregistré (Figure II.10.), mais la concentration finale de PDC dans la solution à étudier a été de $2 \cdot 10^{-5}$ mole.L⁻¹ et il est enregistré sur un appareil Perkin-Elmer Lambda 15.

On constate qu'il y a un déplacement de la bande située à 280 nm en solvant polaire vers des longueurs d'ondes plus grandes quand la polarité du solvant diminue. Le fait que cette bande est déplacée vers les grandes longueurs d'onde en solvants non-polaires, pouvait s'expliquer par une faible interaction solvant-soluté. Par contre dans un solvant polaire, l'interaction solvant-soluté est plus importante: en effet, l'énergie nécessaire pour que la molécule passe de l'état fondamental à l'état excité est plus élevée.

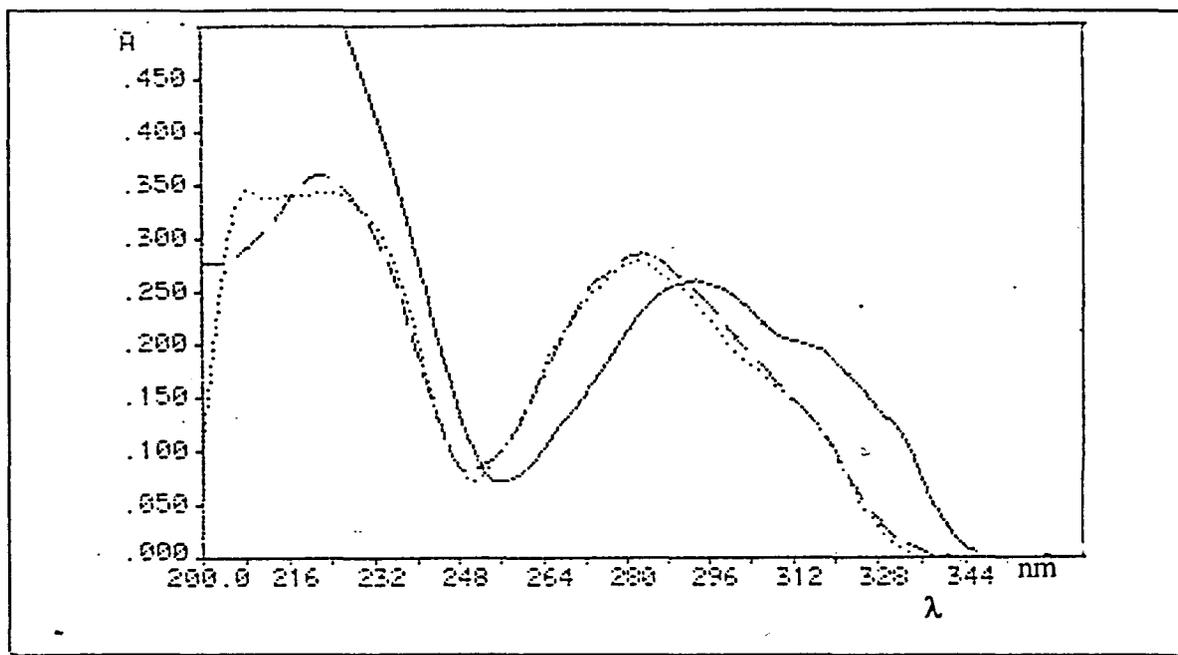


Figure II.9 Spectres UV du PDC : influence du solvant

..... ETHANOL
 - - - - EAU
 ——— CYCLOHEXANE

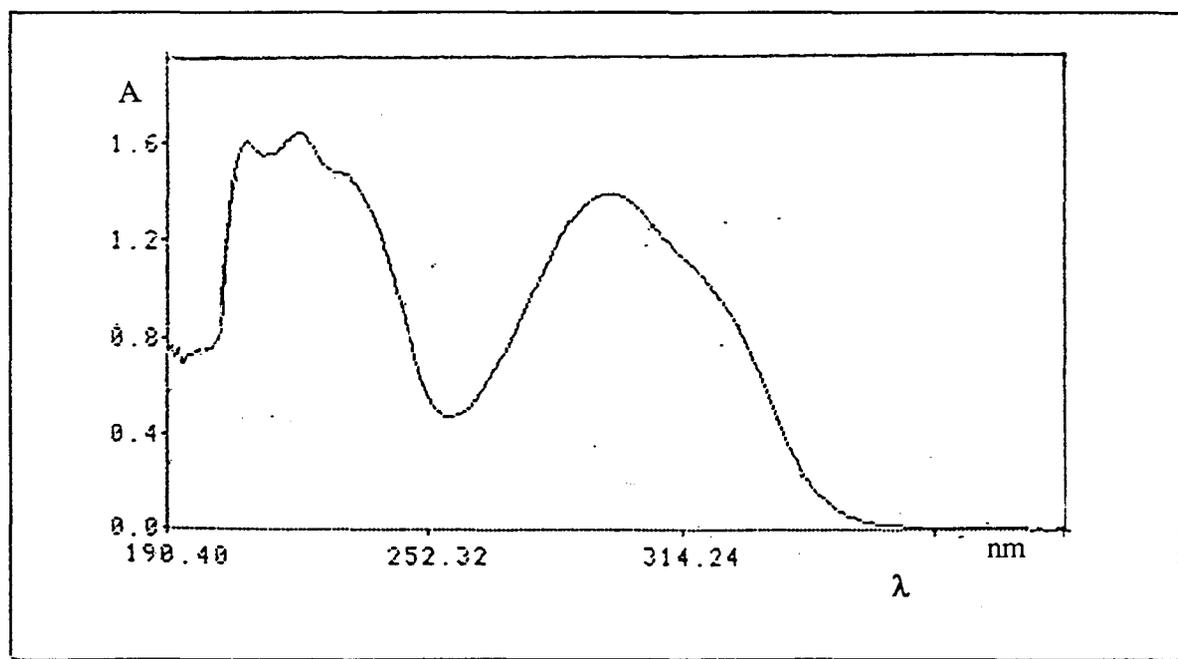


Figure II.10 Spectres UV du PDC dans l'octanol

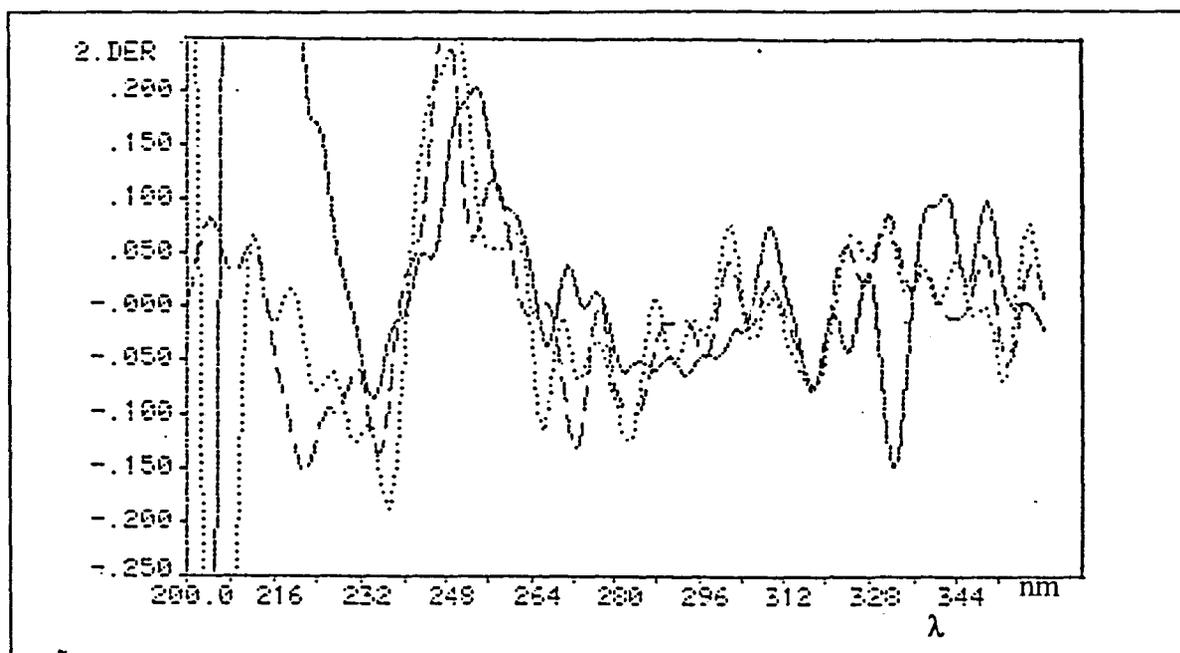


Figure II.11 Spectres UV du PDC d'ordre 2: influence du solvant

..... ETHANOL
 -.-.- EAU
 ——— CYCLOHEXANE

Nous présentons dans le Tableau II.5 l'influence de la polarité du solvant sur les principales bandes d'absorption du composé. Nous avons ajouté aussi les principales caractéristiques du spectre simulé.

Tableau II.5

SPECTRE EXPERIMENTAL		λ_{\max}			λ_{\min}		
98% EAU	78,5	202	222	283	202	250	344
96% ETHANOL	24,3	208	223	283	212	251	344
98% CYCLOHEXANE	2,0	201		293	212	255	250
99% OCTANOL		209	221	297	199	257	376
<i>SPECTRE SIMULE</i>		<i>189</i>	<i>232</i>	<i>311</i>	<i>178</i>	<i>259</i>	<i>360</i>

Les spectres enregistrés en dérivée seconde (Figure II.11) montrent qu'il y a un changement dans la distribution des sous-bandes de cette bande caractéristique en fonction de la polarité du solvant, même pour des solvants avec des polarités comparables (cas de l'eau et de l'éthanol). Ceci peut être expliqué par une interaction assez importante entre les molécules du composé PDC et celles du solvant polaire.

L'énergie d'excitation de la molécule est calculée à partir de la formule :

$$E = h \frac{c}{\lambda} \quad (1)$$

h - constante de Planck (6,626.10⁻³⁴ J.s)

c - vitesse de la lumière (3.10⁸ m/s)

λ - longueur d'onde (nm)

$$E_{\lambda_{\max}} = \frac{28590}{\lambda_{\max}} \text{ kcal / mole} \quad (2)$$

Nous avons utilisé la formule (2) pour calculer la valeur de la variation de l'énergie et le Tableau II.6 présente les résultats obtenus.

Tableau II.6

SOLVANT (ϵ)	λ_{\max} (nm)	E (kcal/mole)	ΔE ($E_{\lambda_{\max}^{\text{eau}}} - E_{\lambda_{\max}^{\text{oct}}}$) (kcal/mole)
Octanol	297	96,26	4,76*
Ethanol (Eau)	283	101,02	

La valeur ainsi calculée pour la variation d'énergie $\Delta E = 4,76$ kcal/mole est de l'ordre de la valeur connue pour la formation d'une liaison d'hydrogène (~ 3 kcal/mole).

Il s'agit donc d'une liaison d'hydrogène entre une molécule de PDC et une molécule de solvant polaire (eau ou éthanol) qui fait que le maximum d'absorption est déplacé de 297 nm (dans l'octanol) à 283 nm (dans solvant polaire).

Influence de la concentration de l'eau sur le spectre du composé dissout dans l'éthanol

L'influence de la concentration d'eau sur l'allure du spectre du PDC est importante si nous envisageons ce produit comme potentiel inhibiteur des lipoxygénases. On connaît le fait qu'une concentration d'éthanol de 10% par rapport à la quantité d'enzyme, diminue d'une manière drastique son activité. C'est la raison pour laquelle nous avons voulu étudier le comportement du PDC dans des solutions éthanoliques pour lesquelles la concentration d'eau augmente.

Nous avons utilisé une solution mère de PDC de concentration $2 \cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ dans l'éthanol à 95%. Nous avons travaillé avec des fioles jaugées de 5 mL, dans lesquelles nous avons mis toujours 0,5 mL PDC $2 \cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ et des volumes différents d'eau et d'éthanol, comme dans le Tableau II.7. Le témoin a été préparé de la même façon, mais sans y ajouter de PDC. Les cuves ont un trajet optique de 1cm.

Tableau II.7

VOLUME de PDC $2 \cdot 10^{-4}$ mole.L ⁻¹ mL	VOLUME d'Ethanol mL	VOLUME d'Eau mL	N° du spectre
0,5	-	4,5	1
0,5	1,0	3,5	2
0,5	2,0	2,5	3
0,5	3,5	1,0	4
0,5	4,5	-	5

Pour que la figure ne soit pas chargée et donc difficile à interpréter, les spectres issus de cette étude sont présentés dans les Figures II.12. Chaque figure garde deux spectres enregistrés auparavant, auxquels nous ajoutons le troisième.

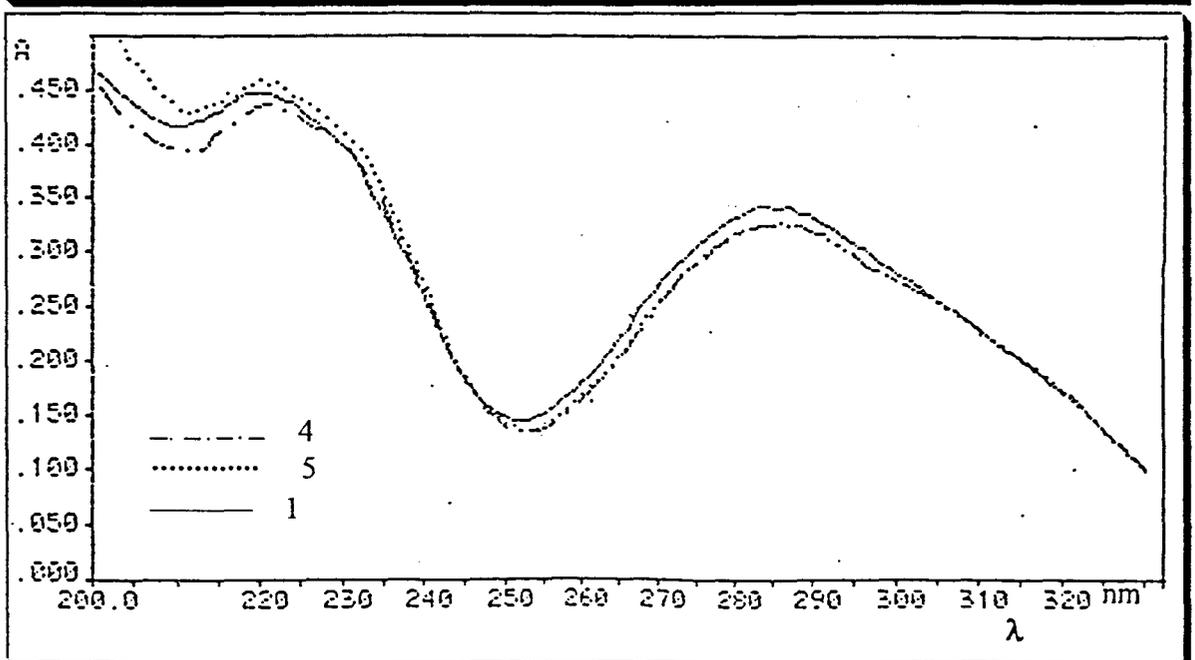
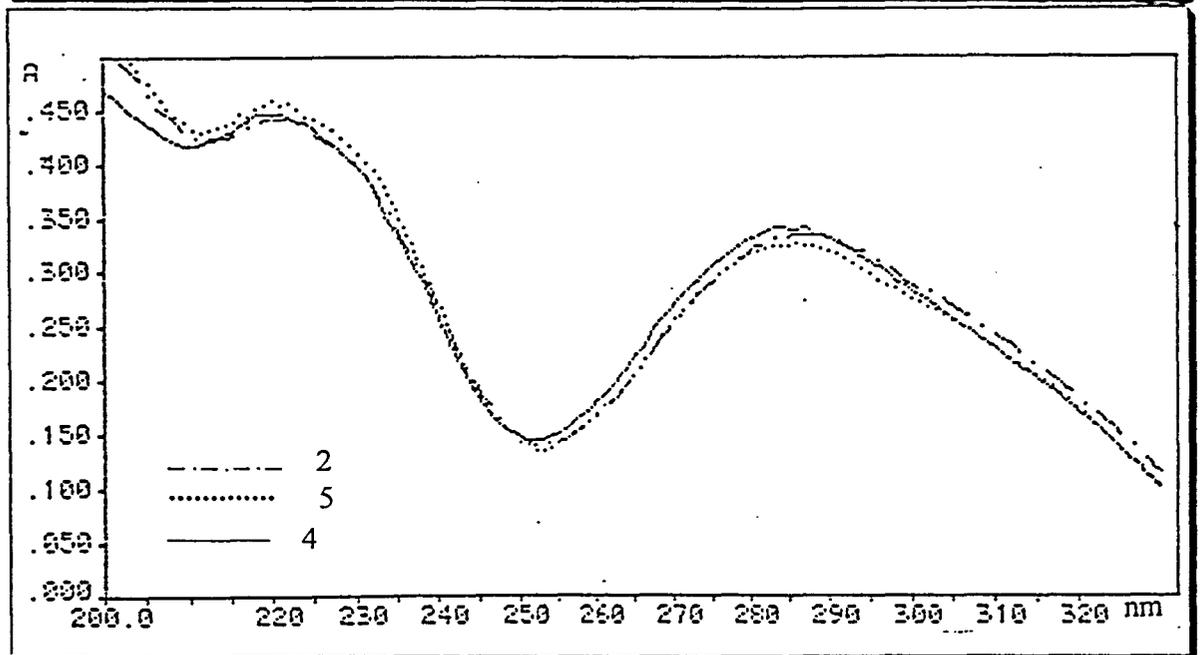
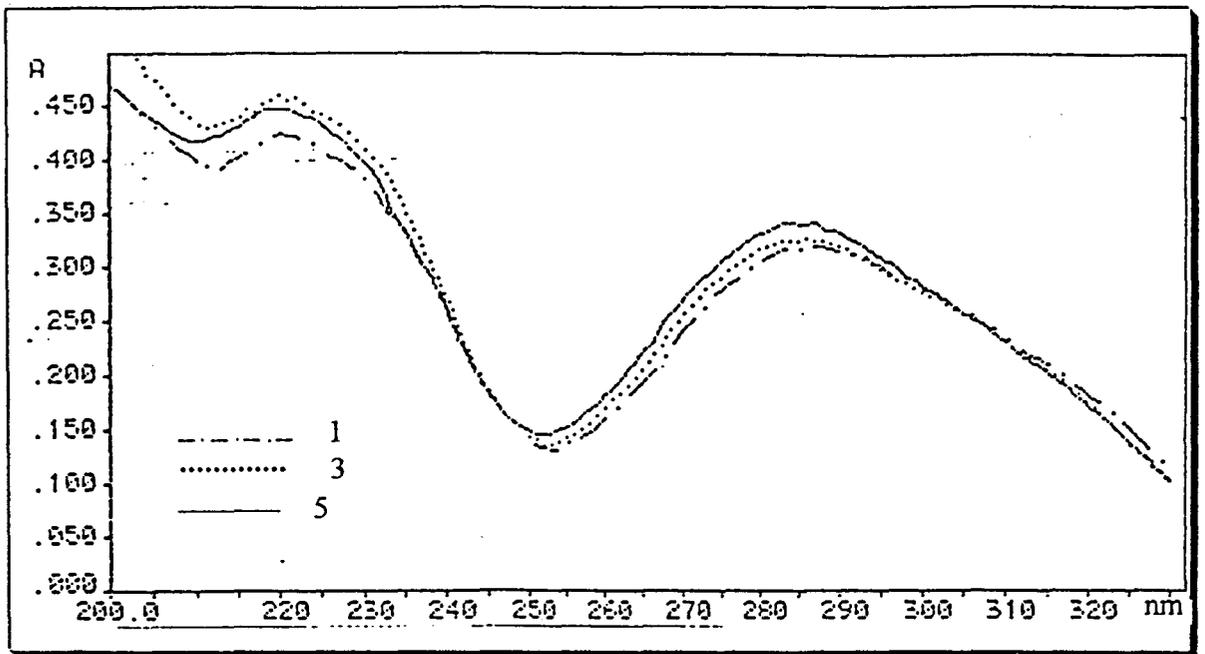


Figure II. 12 Influence de la concentration d'eau-éthanol sur l'allure du spectre du PDC

Nous avons résumé dans le Tableau II.8 l'influence de la concentration en eau sur la bande située à 286 nm.

Tableau II.8

EAU		λ_{\max}
VOLUME (mL)	CONC. (%)	
4,5	90,5	284,0
3,5	70,5	286,0
2,5	50,5	287,4
1,0	20,5	288,0
-	5,0	286,0

Dans des solvants polaires, tel que l'eau ou l'éthanol, le spectre du PDC ne présente pas de différences considérables. Une variation de concentration de l'eau dans une solution éthanolique de PDC ($2 \cdot 10^{-5}$ mole.L⁻¹) n'a pas une influence importante sur l'allure du spectre.

CONCLUSION

Le spectre UV du benzène présente une bande d'absorption de faible intensité à 260 nm. Dans le spectre UV du PDC on observe un déplacement bathochrome de cette bande, ainsi qu'un effet hyperchrome important. Ces faits sont corrélés avec une augmentation de conjugaison existante dans la molécule de PDC.

Le spectre UV du PDC sera désormais caractérisé par les deux maxima d'absorption : à respectivement 220 nm et à 293 nm.

Dans des solvants polaires, tel que l'eau ou l'éthanol, le spectre du PDC ne présente pas de différences considérables. Une variation de concentration de l'eau dans une solution éthanolique de PDC ($2 \cdot 10^{-5}$ mole.L⁻¹) n'a pas une influence importante sur l'allure du spectre.

Il y a un déplacement bathochrome de la bande située dans l'éthanol à 283 nm avec la diminution de la polarité du solvant.

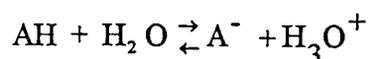
Nous avons mis en évidence la formation d'une liaison d'hydrogène qui s'effectue au niveau de la fonction acide carboxylique. Cette affirmation est basée sur la variation de l'énergie calculée à partir de la valeur du maximum d'absorption du PDC dans des solvants : polaire et non polaire. La bande située à 283 nm est donc due à une transition $n \rightarrow \pi^*$.

Il y a une très bonne concordance entre le spectre théorique simulé et les spectres enregistrés, ce qui nous permet de proposer pour cette molécule une structure comme celle présentée dans la figure .

DETERMINATION DU pK_a

Une étude spectrométrique pour caractériser le comportement acido-basique du PDC a été menée.

Un équilibre acido- basique:



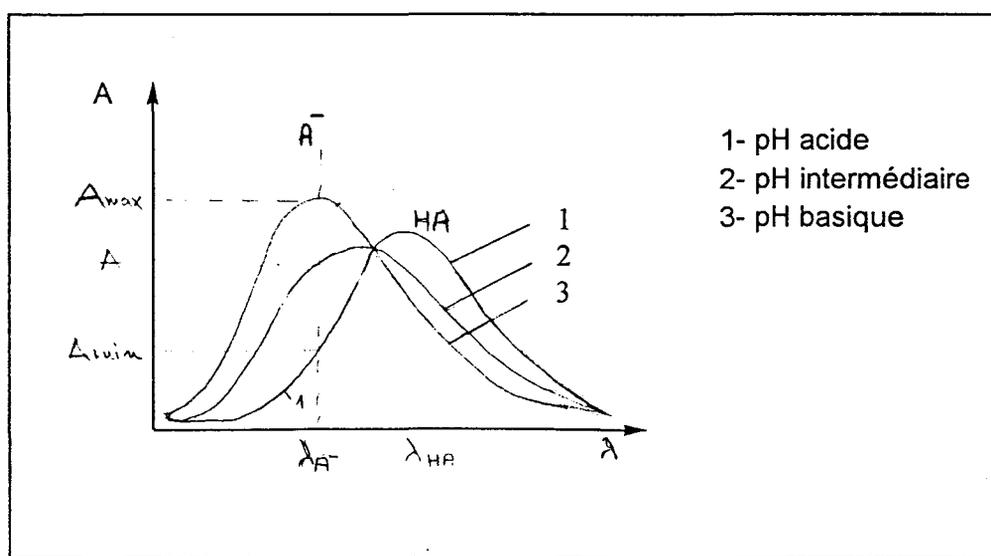
est caractérisé par sa constante d'acidité:

$$K_a = \frac{[A^-] \cdot [H_3O^+]}{[HA]} \quad (1)$$

Pour un couple acide - base conjuguée, l'équation de *Henderson-Haselbach*⁹, dérivée de l'expression (1) est la suivante:

$$pH = pK_a + \lg \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (2)$$

L'alternative spectrométrique de cette équation pour le cas d'un acide dont le spectre subit un déplacement hypsochrome avec l'augmentation du pH sera établie comme suit:



Considérons le calcul pour λ_1 :

$$A_{\max} = \varepsilon_{A^-} \cdot c \quad \varepsilon_{HA} \text{ coefficient d'extinction molaire de l'espèce HA}$$

$$A_{\min} = \varepsilon_{HA} \cdot c \quad \varepsilon_{A^-} \text{ coefficient d'extinction molaire de l'espèce } A^-$$

c concentration totale en soluté

$$c = [HA] + [A^-] \quad [HA], [A^-] - \text{concentrations respectives à l'équilibre de l'espèce acide, et basique}$$

La valeur de l'absorbance pour un pH intermédiaire est donnée par:

$$A = \varepsilon_{HA} [HA] + \varepsilon_{A^-} [A^-]$$

Relation qui combinée avec celle de *Henderson-Haselbach* conduit à:

$$\boxed{pK_a = pH - \lg \frac{A_{AH} - A}{A - A_{A^-}}} \quad (3)$$

ou encore

$$\boxed{pK_a = pH - \lg \frac{A - A_{\min}}{A_{\max} - A}} \quad (4)$$

Nous avons utilisé pour la détermination du pK_a de l'acide PDC trois variantes de la même équation (4), deux étant des méthodes graphiques et la troisième une méthode de calcul de la valeur moyenne de pK_a . Le choix des trois variantes a été déterminé par la nécessité de trouver la valeur la plus exacte pour le pK_a .

a) *Calcul du pK_a utilisant directement l'équation Henderson-Haselbach*

Les valeurs des pK_a ainsi que la valeur moyenne pK_a ont été calculées en utilisant une variante de l'équation adaptée pour la spectrométrie de l'équation :

$$pH - pK_a = \lg \frac{\epsilon' c - A_s}{A_s - \epsilon c}$$

où: ϵ' et ϵ sont les coefficients de l'extinction molaire de la forme acide et de la forme base conjuguée pour le couple considéré;

c est la concentration molaire en espèce absorbante;

A_s est l'absorbance de la solution à un pH donné;

Méthodes graphiques

b) La représentation graphique des valeurs $\lg \frac{\epsilon' c - A_s}{A_s - \epsilon c}$ en fonction du pH est une droite qui a un point d'intersection avec l'axe des pH à une valeur égale à la valeur du pK_a . Pour améliorer cette valeur, nous avons utilisé une méthode de régression linéaire et les coefficients de corrélations pour les droites obtenues ont été calculés.

c) Pour la famille de courbes $A = f(\lambda)$, caractérisées par le même point isosbestique, nous avons fait une représentation graphique $A = f(pH)$. Le point d'inflexion de la courbe obtenue donne la valeur du pK_a .

Les valeurs expérimentales ont été ajustées à l'aide d'une courbe de type Spline. Le traitement mathématique de cette courbe nous a permis de déterminer avec un minimum d'erreur le point d'inflexion de la courbe $A = f(pH)$.

Calcul du pK_a en solution aqueuse

Une solution mère de PDC 10^{-3} mole.L $^{-1}$ dans NaOH 0,1 mole.L $^{-1}$ a été utilisée.

Les solutions étudiées ont été préparées à partir de cette solution comme suit: 1 mL de solution mère de PDC 10^{-3} mole.L $^{-1}$ dans NaOH 0,1 mole.L $^{-1}$ a été mis dans une fiole jaugée de 25 mL et un volume calculé de solution d'acide chlorhydrique de concentration 0,1 mole.L $^{-1}$ a été ajouté pour obtenir le pH désiré. Plusieurs solutions dont le pH a été ainsi calculé ont été préparées. Chaque fiole jaugée a été complétée au trait avec une solution de NaCl 0,1 M (pour maintenir la force ionique) à une valeur constante. Nous avons mesuré, à l'aide d'un pH -mètre MV-86 (VEB - Präcitronic Dresden), pour chaque solution, la valeur du pH . La variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde a été enregistrée pour chaque essai. Nous avons utilisé des cuves dont le trajet optique est d'un centimètre. Le témoin a été préparé de la même façon, mais au lieu d'une solution de PDC, nous avons ajouté seulement un volume équivalent de NaOH 0,1 mole.L $^{-1}$. Nous avons également mesuré la valeur du pH pour chaque témoin.

La variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour un domaine de valeurs de pH compris entre 1,60 et 12,30 montre l'existence d'un point isosbestique à $\lambda = 287$ nm. Ce fait nous permet de calculer la constante d'acidité pour l'acide PDC (dans les conditions décrites).

Nous présentons dans le Tableau II.9 les valeurs mesurées pour le pH et les valeurs d'absorbance correspondantes. L'absorbance a été lue à deux longueurs d'onde.

Tableau II.9

pH	A	
	$\lambda = 285$ nm	$\lambda = 295$ nm
1.60	0.580	0.500
2.65	0.580	0.505
3.80	0.560	0.540
11.80	0.505	0.587
12.30	0.500	0.590

Pour les méthodes graphiques nous avons utilisé un logiciel (Easy Plot) permettant l'optimisation des courbes

Détermination du pK_a dans milieu eau-éthanol

Nous avons déterminé la valeur de la constante d'acidité pour le PDC dissous dans une solution éthanolique. La corrélation des deux valeurs de pK_a obtenues : pour le milieu aqueux et non aqueux a été faite en tenant compte des données de la littérature¹⁰.

Une solution mère de PDC 10^{-3} mole.L⁻¹ dans l'éthanol à 95% a été utilisée.

Le pH a été ajusté au moyen des deux solutions de soude et d'acide chlorhydrique de même concentration, respectivement 0,1 mole.L⁻¹. Les volumes ajoutés ont été dispensés à l'aide d'une micropipette et ne dépasse pas 100 μ L pour 100 mL de solution. Cette procédure nous permet de garder tout au long de l'expérience le point isosbestique à $\lambda = 292$ nm.

Les valeurs issues de la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde sont présentées dans le Tableau II.10.

Tableau II.10

pH	A $\lambda = 285,2$ nm	Spectre no.
9,09	0,174	1
4,87	0,165	2
4,51	0,156	3
4,28	0,154	4
4,06	0,151	5
3,84	0,146	6
3,77	0,140	7
3,60	0,140	8

Les spectres sont présentés dans la Figure II.13.

Pour les méthodes graphiques nous avons utilisé un logiciel (Easy Plot) permettant l'optimisation des courbes.

Les valeurs de pK_a pour l'acide PDC sont résumés dans le Tableau II.11

METHODE DE CALCUL DU pK_a	Titration acido-basique	
	PDC dans NaOH 0,1 mole.L ⁻¹	PDC dans l'éthanol
a	4,09	4,16
b	4,30 $r = 0,9714$	4,16 $r = 0,9842$
c	3,90*	3,81*
pK_a	4,10	4,16

* Méthode c est souvent imprécise

$$pK_a = 4,13 \pm 0,03$$

La valeur du pK_a de l'acide 3,4 diméthoxycinnamique a été déterminée comme suit:

- 0,2 mL de solution d'acide DMC 10^{-2} mole.L⁻¹ dans l'éthanol à 95% et 1,8 mL éthanol à 95% sont mis dans un volume final de 100 mL d'eau distillée. Le pH a été ajusté à l'aide de petits volumes de soude et d'acide chlorhydrique de concentration 0,1 mole.L⁻¹.

Les spectres sont présentés dans la Figure II.14. Les valeurs du pH et de l'absorbance dans le Tableau II.12.

Tableau II.12

pH	A $\lambda = 318\text{nm}$	Spectre no.
4,93	0,230	1
4,69	0,235	2
4,46	0,246	3
4,32	0,250	4
4,10	0,258	5
3,86	0,266	6
3,73	0,270	7
3,61	0,272	8

La valeur du pK_a de l'acide ACD a été déterminée comme suit:

-1 mL de solution d'acide ACD 10^{-3} mole.L⁻¹ dans l'éthanol à 95% est mis dans une fiole jaugée de 25 mL. Le pH a été ajusté à l'aide de 10 mL solution tampon Britton-Robinson. Chaque fiole jaugée a été complétée au trait avec l'eau distillée.

Les spectres sont présentés dans la Figure II.15.

La valeur du pK_a de l'acide ACS a été déterminée comme suit:

- 0,2 mL de solution d'acide ACS 10^{-2} mole.L⁻¹ dans l'éthanol à 95% et 1,8 mL éthanol à 95% sont mis dans un volume final de 100 mL d'eau distillée. Le pH a été ajusté à l'aide de petits volumes de soude et d'acide chlorhydrique de concentration 0,1 mole.L⁻¹.

Les spectres sont présentés dans la Figure II.16.

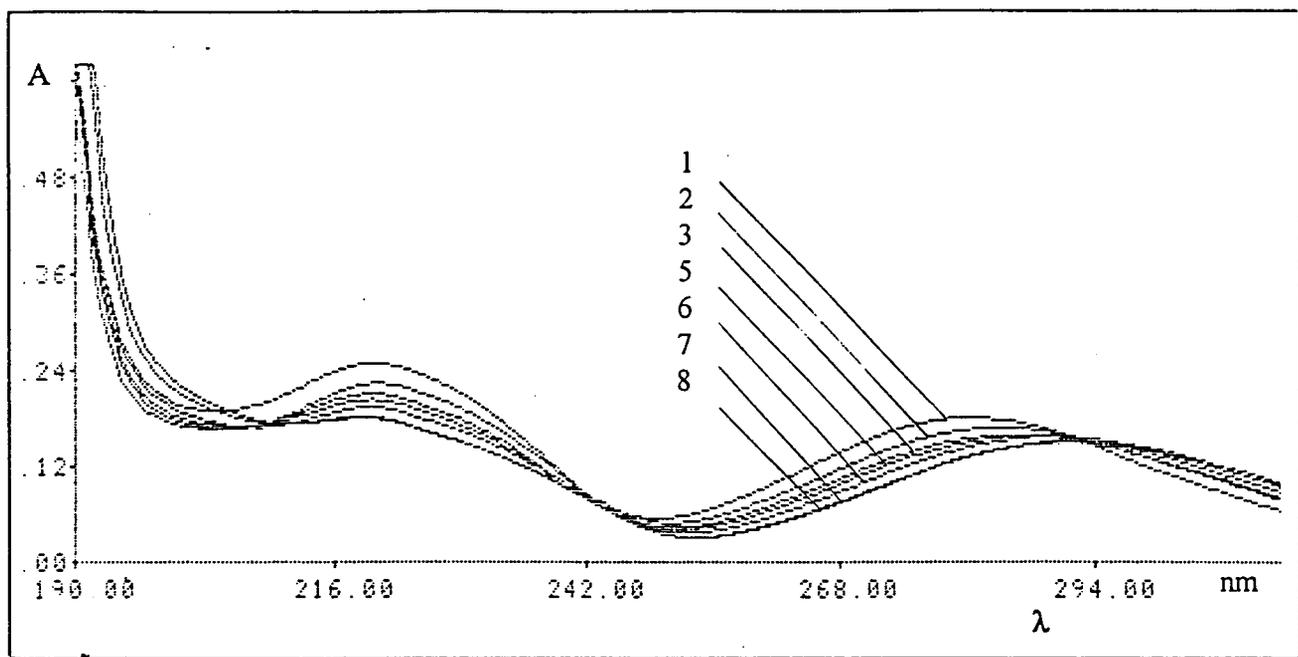


Figure II.13 Influence du pH sur le spectre UV du PDC (voir Tableau II.10)

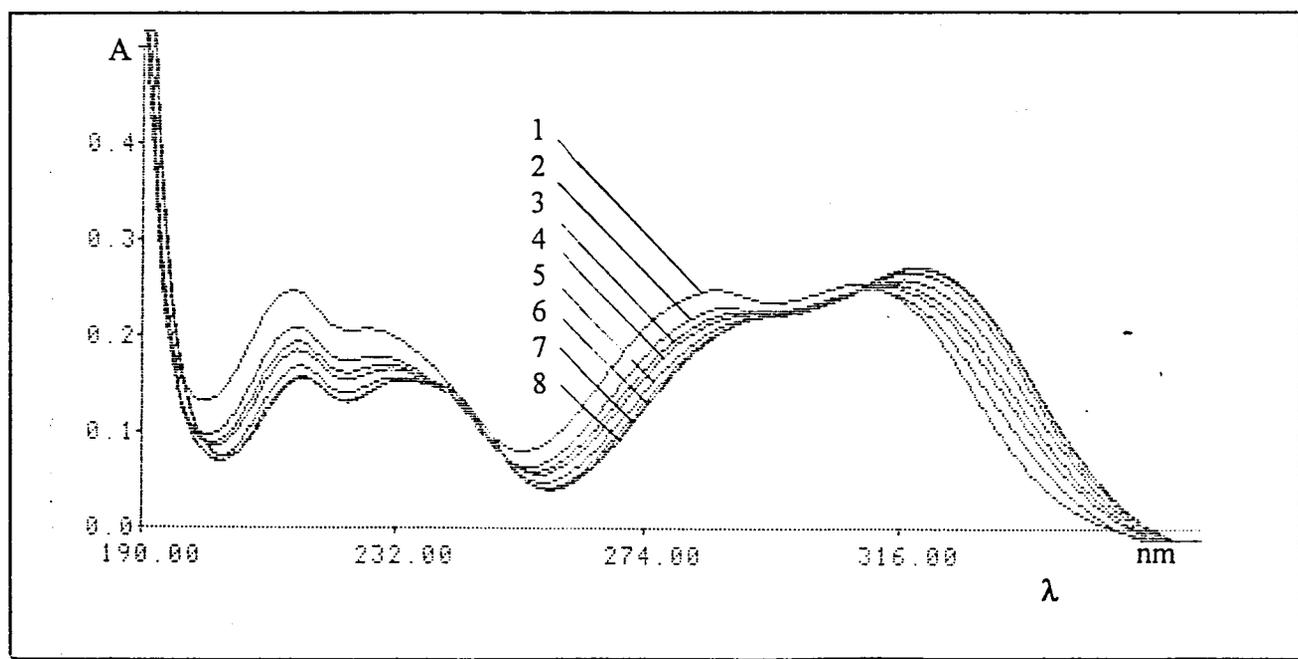


Figure II.14 Influence du pH sur le spectre UV du DMC (voir Tableau II.17)

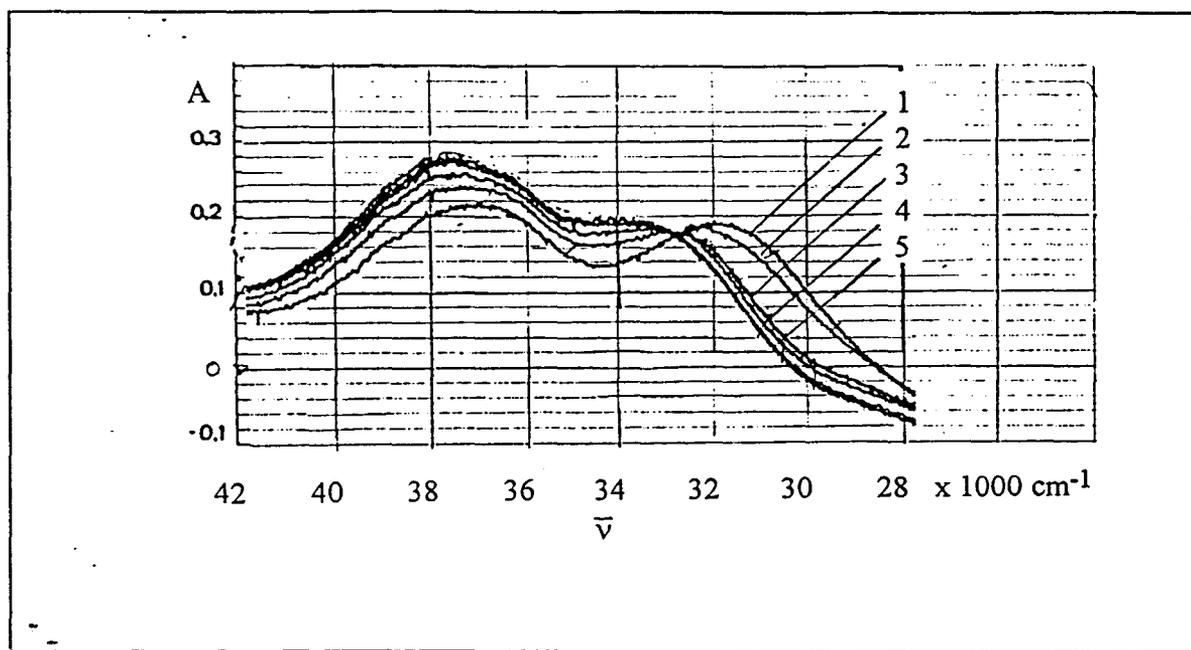


Figure II.15 Influence du pH sur le spectre UV d'ACD

Courbe	1	2	3	4	5
pH	1,85	3,80	4,50	8,45	11,70

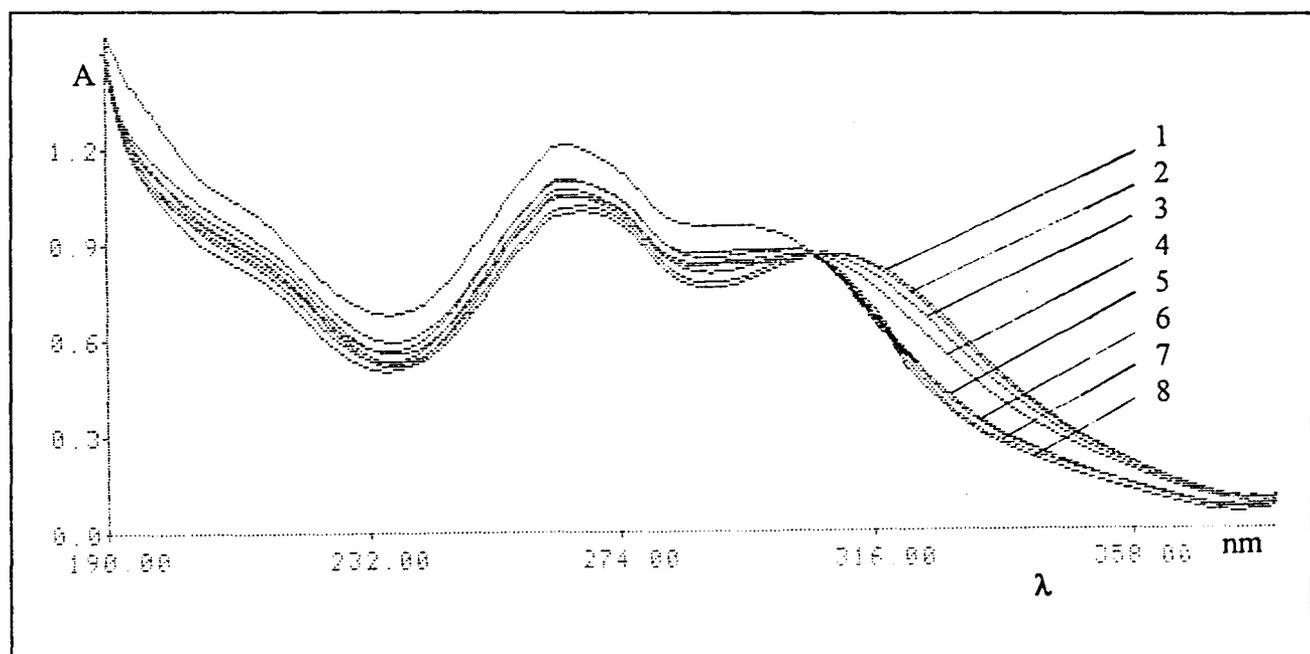


Figure II.16 Influence du pH sur le spectre UV d'ACS

Courbe	1	2	3	4	5	6	7	8
pH	3,92	4,05	4,24	4,46	4,90	5,16	5,33	8,92

A titre de comparaison, nous présentons dans le Tableau II.13 les valeurs du pK_a recueillies dans la littérature, pour l'acide caféique¹¹ ainsi que pour l'acide cinnamique. Nous y ajoutons la valeur expérimentale du pK_a de l'acide PDC, de l'acide DMC, de l'acide ACD et de l'acide ACS.

Tableau II.13

COMPOSE	pK_a
CIN	4,44
ACIDE CAFEIQUE	4,44
DMC	4,41
PDC	4,13
ACD	4,81
ACS	3,86

CONCLUSION

La valeur du pK_a trouvée à la suite de cette étude met en évidence l'influence du groupement prényle sur l'ensemble de la densité électronique de la molécule de PDC.

L'examen du tableau montre que les valeurs de pK_a varient légèrement d'un composé à l'autre. Cette variation traduit l'influence des effets électroniques exercés par les substituants du cycle benzénique.

Les dérivés de l'acide cinnamique se comportent en solution comme des acides faibles. Il semble que la déprotonation de ces molécules se fasse en fonction de la nature de substituants du cycle aromatique. Bien qu'éloigné du site de déprotonation, le groupement prényle exerce une influence sur l'acidité du PDC.

Les valeurs de pK_a de l'ACD et de l'ACS mettent en évidence un comportement acido-basique différent. L'ACS est le plus fort parmi les composés considérés.

Du point de vue acido-basique le PDC se montre comme un acide faible, mais plus fort par rapport aux DMC et acide caféïque.

Les effets électroniques de ces substituants : prényle, respectivement chromène, doivent pouvoir se transmettre jusqu'au groupement carboxylique, grâce à la délocalisation électronique dont ces molécules sont le siège.

Par ailleurs, le comportement acido-basique jointe à la forte lipophilie, incite à penser que le PDC pourrait inhiber la dégradation de l'acide arachidonique, en agissant sur la voie de la 5-lipoxygénase.

CONCLUSION

La valeur du pK_a trouvée à la suite de cette étude met en évidence l'influence du groupement prényle sur l'ensemble de la densité électronique de la molécule de PDC.

L'examen du Tableau II.13 montre que les valeurs de pK_a varient légèrement d'un composé à l'autre. Cette variation traduit l'influence des effets électroniques exercés par les substituants du cycle benzénique.

Les dérivés de l'acide cinnamique se comportent en solution comme des acides faibles. La déprotonation de ces molécules se fait en fonction de la nature de substituants du cycle aromatique. Bien qu'éloigné du site de déprotonation, le groupement prényle exerce une influence sur l'acidité du PDC.

Les valeurs de pK_a de l'ACD et de l'ACS mettent en évidence un comportement acido-basique différent. L'ACS est le plus fort parmi les composés considérés.

Du point de vue acido-basique le PDC se montre comme un acide faible, mais plus fort par rapport aux DMC et acide caféïque.

Les effets électroniques de ces substituants : prényle, respectivement chromène, doivent pouvoir se transmettre jusqu'au groupement carboxylique, grâce à la délocalisation électronique dont ces molécules sont le siège.

Par ailleurs, le comportement acido-basique jointe à la forte lipophilie, incite à penser que le PDC pourrait inhiber la dégradation de l'acide arachidonique, en agissant sur la voie de la 5-lipoxygénase.

VOLTAMMETRIE CYCLIQUE

La connaissance des caractéristiques fondamentales des réactions électrochimiques est obtenue, sur le plan expérimental, au moyen de la détermination de figures qui expriment la relation entre le courant et le potentiel d'électrode.

Le principe général de la voltampérométrie¹² est l'obtention d'une réponse (le courant) du système étudié à la "contrainte" responsable de la production de réactions électrochimiques, en effectuant une exploitation par imposition et variation progressive du potentiel d'électrode.

Parmi les différentes formes de voltampérométrie, nous avons opté pour la méthode en régime de diffusion naturelle (VRDN). Les voltampérogrammes obtenus en absence de toute convection ont pour caractéristique principale de dépendre de la vitesse de balayage de potentiel, laquelle peut être rendue très élevée. Par ailleurs, la réalisation des balayages aller et retour donne naissance à des figures présentant un tracé différent au retour et à l'aller. La méthode correspondant à cette procédure est la voltampérométrie cyclique. L'allure d'un voltammogramme cyclique, ainsi que ses caractéristiques principales sont présentés sur la Figure II.17.

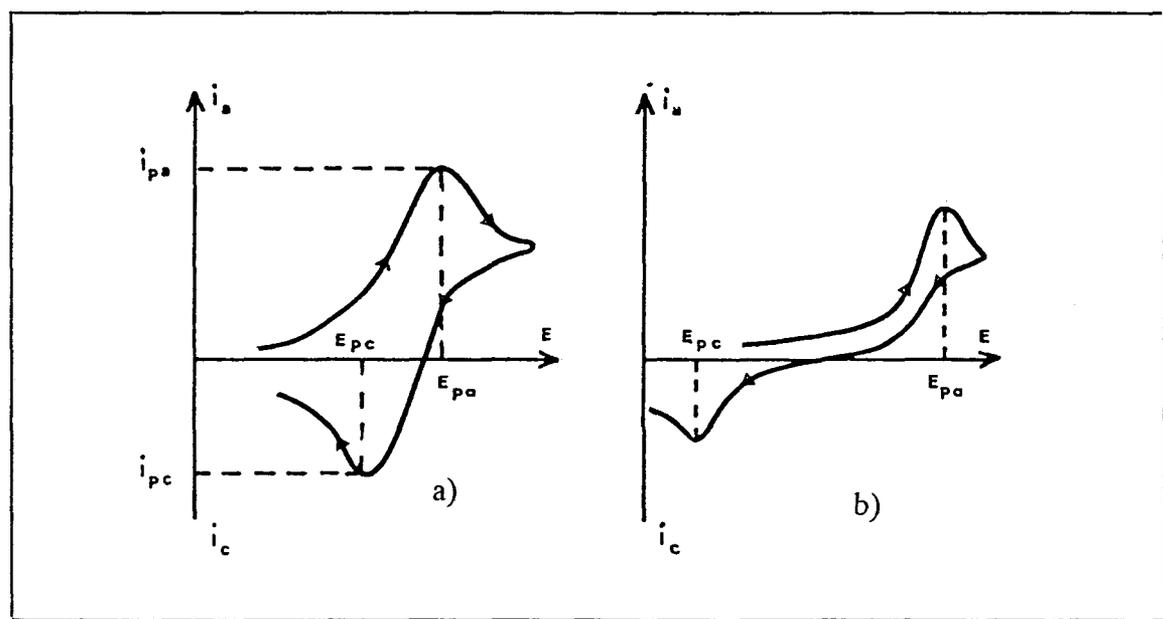


Figure II.17 Voltammogrammes cycliques
a) système lent; b) système rapide

L'intérêt principal de la voltampérométrie cyclique réside donc dans la possibilité d'effectuer, à partir d'une substance électroactive, une analyse des processus électrochimiques auxquels donne lieu cette substance, dans les deux sens de réaction (aller et retour).

En mettant en oeuvre le facteur d'action constitué par la vitesse de balayage de potentiel (l'effet de la cinétique réactionnelle pouvant être observé aux valeurs les plus élevées de cette vitesse), cette analyse apporte des informations quantitatives sur la réversibilité des réactions et la rapidité du système. Cette caractéristique fait considérer la méthode comme la plus appropriée à l'étude des processus électrochimiques et surtout pour l'étude préliminaire de nouveaux systèmes potentiels électroactifs.

Les études par voltampérométrie cyclique que nous avons menées ont été motivées non seulement par la nouveauté des produits synthétisés, mais par leur possible application comme inhibiteurs des lipoxygénases.

Partie expérimentale

Les voltammogrammes ont été enregistrés dans les mêmes conditions pour tous les composés sur un appareil Tacussel prévu avec un logiciel de traitement des courbes obtenues.

Une cellule à trois électrodes a été utilisée

- l'électrode de travail en platine, ayant un diamètre de 1 mm;
- la contreélectrode en platine;
- l'électrode standard au calomel, comme référence.

Les mesures sont effectuées sous atmosphère inerte (N_2) pour éviter toute réaction rédox générée par l'oxygène.

Une solution mère d'acétonitrile contenant 0,0137 g de tetrabutylammonium-hexafluorophosphate comme électrolyte support a été préparée.

Pour chaque produit une solution de concentration 10^{-3} mole.L⁻¹ (dans solution mère d'acétonitrile) a été faite.

La concentration finale en produit soumis au balayage de potentiel a été de $2,5 \cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ pour un volume total de 20 mL de solution d'acétonitrile.

La vitesse de balayage est de 1 V/s. A une vitesse plus petites nous n'obtenons pas des voltammogrammes reproductibles.

Le voltammogramme du PDC et pour comparaison celui du DMC sont présentés dans la Figure II.18.

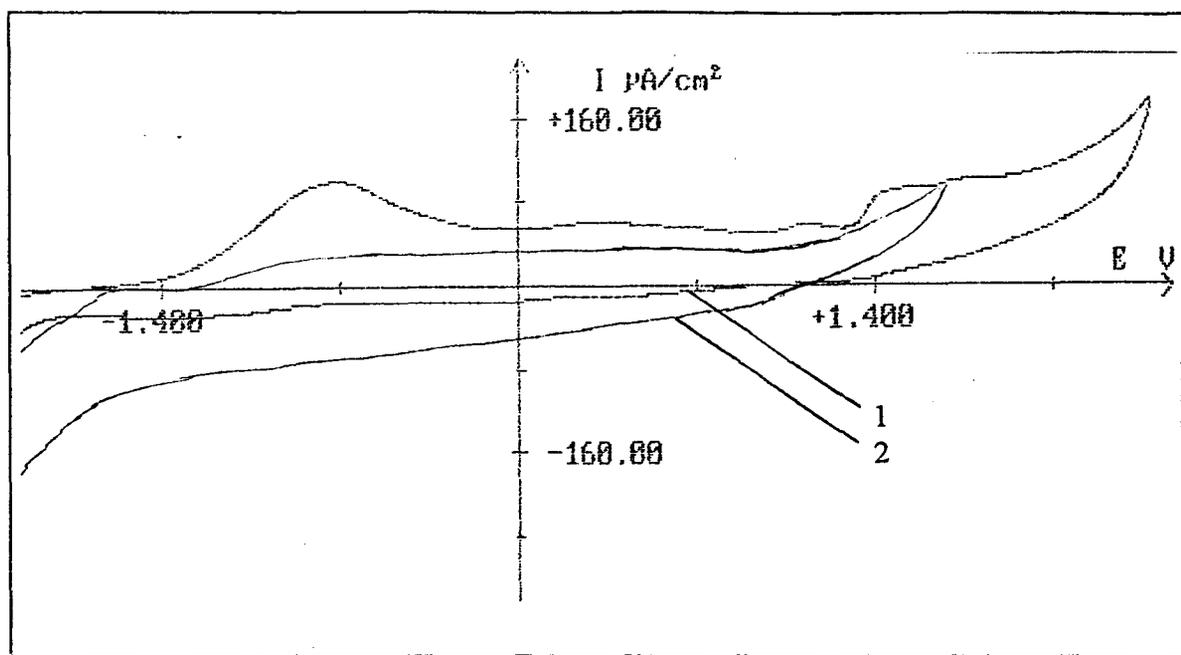


Figure II.18 Voltammogrammes cycliques expérimentaux :
1 - DMC; 2 - PDC

Comme on peut le constater le PDC se montre stable aux processus d'oxydo-réduction.

Les voltammogrammes enregistrés pour les autres composés synthésés ont une allure qui n'est pas plus différantes de celle du PDC.

CONCLUSION

Malgré les efforts déployés, les voltammogrammes restent peu exploitables dans les conditions de travail décrites.

Le domaine des potentiels accessibles dans les solvants courants est limité à $\pm 3\text{V}$, par rapport à l'électrode au calomel saturé. Du point de vue énergétique, ceci correspond à une barrière de l'ordre de 300 kJ. Le nombre des transformations réalisables est par suite limité : certains composés ne sont pas électroactifs et ne peuvent être soumis à un traitement électrochimique.

L'emploi d'une électrode de travail en Pt, qui peut devenir passive à la suite d'une réaction de polymérisation du composé étudié, limite nos études.

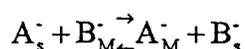
Le fait que pour les produits testés on n'observe pas un pic d'oxydation dans le domaine des potentiels correspondants au potentiel de 0,7 V (caractéristique pour le couple $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) est essentiels pour la suite de nos études.

Nous avons l'intention d'approfondir, dans l'avenir cette étude. Un changement du système d'électrodes est souhaitable.

COMPORTEMENT DU PDC A L'ECHANGE IONIQUE

En chromatographie d'échange d'ions² la phase stationnaire est un échangeur d'ions, c'est -à-dire un solide comportant des groupements fonctionnels ionisés, fixes, porteurs de charges positives ou négatives et des ions mobiles de signe contraire, assurant l'électroneutralité. Les ions, retenus au voisinage des groupements fonctionnels par des forces d'attraction électrostatique, sont échangeables, en nombre équivalent avec ceux de la solution mise en contact avec l'échangeur.

Par exemple, avec un échangeur d'anions, sous forme A^- et une solution d'ions B^- , il s'établit l'équilibre:



les indices "S" et "M" designent respectivement "la phase stationnaire" et "la phase mobile"

Les séparations par échange d'ions s'adressent plus particulièrement aux espèces ionisées ou ionisables, encore que certaines séparations de solutés non ioniques puissent également être obtenues par partage entre les deux phases. Cette caractéristique explique les développements importants de la chromatographie d'échange d'ions dans le domaine de la biochimie: de nombreuses substances d'intérêt biologique qui sont solubles dans l'eau et sont facilement ionisées se prêtent bien à la chromatographie d'échange d'ions. En effet ces produits l'analyse ne peut être effectuée par chromatographie en phase gazeuse, en raison de leur trop faible volatilité et des risques de dégradation.

Résines échangeuses d'ions

La matrice d'une résine classique échangeuse d'ions est constituée par un réseau macromoléculaire tridimensionnel, le plus souvent un copolymère styrène-divinylbenzène, sur lequel sont greffés les groupements fonctionnels.

Considérons, par exemple, une résine polystyrène sulfoné (Figure II.19). En présence d'eau, on observe un gonflement de la résine: des molécules d'eau entrent à l'intérieur des grains et solvatent les groupements $\text{—SO}_3\text{H}$, provoquant leur ionisation et leur dissociation totale en un anion —SO_3^- immobilisé par la résine échangeuse d'ions et un cation H^+ libre (échangeable) assurant l'électroneutralité. On peut considérer qu'il existe dans la résine hydratée une solution très concentrée (plusieurs fois molaire) du cation ou de l'anion associé aux groupements fonctionnels.

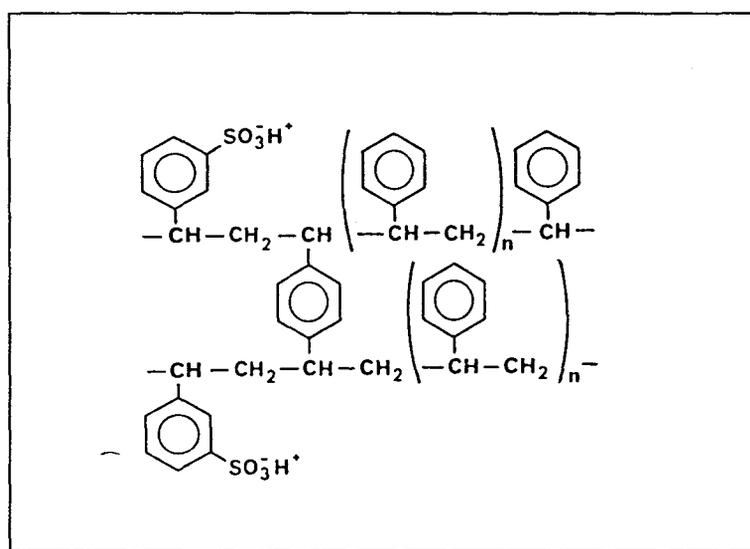


Figure II.19 Résine échangeuse de cations polystyrène - divinylbenzène sulfoné

Le gonflement de la résine est fonction de la nature anionique ou cationique de l'échangeur. Aussi convient-il de remplir la colonne ou de travailler avec la résine (s'il s'agit d'une méthode dynamique) après mise en équilibre avec la phase éluante.

La structure du polymère détermine les propriétés mécaniques du support et la facilité d'accès des différents espèces aux sites échangeurs. Elle détermine également la sélectivité et la vitesse des échanges: la résistance à la pression et la sélectivité augmentent avec la réticulation du polymère, mais la vitesse diminue, du fait de l'accroissement de la résistance au transfert de masse. Ceci explique les difficultés d'emploi des résines conventionnelles en chromatographie à haute performance.

Pour ces résines classiques, à structure microporeuse, le degré de réticulation dépend du taux de pontage, celui-ci étant le pourcentage en poids du divinylbenzène dans le copolymère (désigné par X suivi de ce pourcentage; ainsi X8 désigne un taux de 8%). Toutefois, l'augmentation du taux de pontage diminue la vitesse des échanges, ainsi que le diamètre des pores: pour un taux de pontage de 10% celui-ci devient de l'ordre de 1,5 mm, de sorte que les phénomènes d'exclusion d'espèces volumineuses peuvent survenir

Etude du comportement du PDC à l'échange ionique du PDC

Pour étudier le comportement au échange ionique du PDC, nous avons choisi des résines échangeuses d'anions fortement basiques DOWEX 1 et 2.

Une quantité de résine DOWEX qui ne dépasse pas 0,1 g, a été équilibrée pendant une heure avec une solution à 50% d'éthanol dans l'eau. Après la décantation la résine ainsi activée a été mise dans un flacon en verre bouché avec le col rodé à bouchon plat, en contact avec 10 mL de solution de PDC 10^{-3} M (dans l'éthanol à 95%) et 20 mL solution à 50% d'éthanol dans l'eau ont y été ajoutés. Le flacon est ensuite agité fortement pendant deux heures et la résine est laissée en contact avec la solution encore 24 heures. La résine est filtrée et lavée avec une solution à 50% d'éthanol dans l'eau. Le filtrat est pris dans une fiole jaugée de 50 mL. A partir de cette solution mère et par dilutions successives, nous avons pu déterminer la concentration de PDC dans le filtrat et par la suite la quantité de PDC fixée dans la résine.

Avec cette valeur ainsi déterminée, nous avons calculé la capacité d'échange de la résine utilisée.

Le dosage du PDC recueilli dans les solutions filtrat est fait par spectrométrie UV. Pour des quantités connues de PDC une droite de calibration a été tracée. ($y = 0,168x - 0,1414$)

On utilise des résines échangeuses d'ions DOWEX 1 et 2 équilibrées avec une solution à 50% d'éthanol dans l'eau.

La résine est activée de la même façon: 0,1 g ont été équilibrés pendant une heure avec une solution à 50% d'éthanol dans l'eau. Après la décantation la résine ainsi activée a été mise dans une petite colonne en verre, munie d'un robinet et d'un entonnoir avec robinet à clé et rodage. La vitesse de passage du PDC est 0,4 mL/min. Les fractions d'effluent sont recueillies. On y dose la quantité de PDC non fixée.

Nous présentons dans le Tableau II.14 le comportement du PDC à l'échange ionique

Tableau II.14.

Résine DOWEX	PDC			C_s	M E T H O D E
	introduit mole	trouvé en			
		solution mole	résine mole	mE/g	
1x1	$1,00.10^{-4}$	$0,830.10^{-4}$	$0,170.10^{-4}$	$0,169.10^{-4}$	D*
2x4	$1,00.10^{-4}$	$0,775.10^{-4}$	$0,220.10^{-4}$	$0,223.10^{-4}$	
2x10	$1,00.10^{-4}$	$0,597.10^{-4}$	$0,400.10^{-4}$	$0,397.10^{-4}$	
2x8	$0,67.10^{-4}$	$0,023.10^{-4}$	$0,650.10^{-4}$		S*
2x1	$2,80.10^{-4}$	$2,360.10^{-4}$	$0,440.10^{-4}$		

Note : chaque valeur de C_s est la moyenne de trois déterminations.

*D - Méthode dynamique; S - Méthode statique

Le PDC est fixé dans des résines échangeuses d'anions fortement basiques de type DOWEX.

Nous avons constaté que la quantité de PDC fixé dans la résine dépend du degré de réticulation de celle-ci.

La fixation du PDC se fait par un échange ionique du à la présence du groupement carboxylique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Silverman, R.B. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action* édit., Academic Press, San Diego, 1992.
2. Rosset, R. *Chromatographie en Phase Liquide et Supercritique* édit., Masson, 1994.
3. Rekker, R.F. *The Hydrophobic Fragmental Constant*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1977.
4. Clark, B.J., Frost, T., Russel, M.A. *UV Spectroscopy Techniques, Instrumentation Data Handling* édit., Chapman & Hall, London, 1993.
5. Rao, C.N.R. *Ultra-Violet and Visible Spectroscopy* édit., Butterworths, London, 1975.
6. Burawoy, A. *Ber.* 1963, 63, 3155.
7. Kasha, M. *Discussion Faraday Soc.* 1950, 9, 14.
8. McConnell, H.J. *Chem. Phys.* 1952, 20, 700
9. Henderson, L. *J. Blut, Seine Pathologie und Physiologie* édit., Steinkopff, Dresden, 1932.
10. Maronny, G. *J. Chem. Phys.* 1959, 56, 140.
11. Janovic, S.V., Steenken, S., Tosic, M, Marjanovic, B., Simic, M.G. *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 4846.
12. Tremillon, B *Electrochimie Analytique et Réactions en Solution* édit., Masson, Paris, 1993.

CHAPITRE III

Interactions entre les dérivés synthétisés et les cations métalliques

Comme nous l'avons déjà présenté (Schéma 4), le mécanisme avancé pour expliquer la dégradation oxydative de l'acide arachidonique par la voie des lipoxygénases, suggère l'existence d'une réaction rédox, entre le fer du site actif de l'enzyme et une double liaison de l'acide polyinsaturé.

Les résultats obtenus à la fin des études voltampérométriques montrent une très grande stabilité à l'oxydation des composés étudiés et donc leur impossibilité d'engendrer une réaction rédox avec le fer du centre catalytique de l'enzyme.

De plus au cours de la réaction de déméthylation nous ne pouvons pas accéder au motif catéchol, qui aurait plus cibler le site actif de l'enzyme.

Nous avons pris aussi en considération la possibilité d'interaction du PDC avec des cations métalliques retrouvés essentiellement ceux qu'on retrouve dans l'organisme et surtout dans les sites actifs des enzymes, afin de tester son pouvoir inhibiteur vis-à-vis des lipoxygénases.

En outre, jusqu'au présent, aucun produit ayant une telle structure n'a été rapporté comme inhibiteurs des lipoxygénases.

Nous avons donc réalisé une étude spectrométrique qui a eu pour objet de caractériser l'interaction du PDC avec certains cations d'intérêt biologique.

Puisque le Fe(III) était le cation d'intérêt majeur pour poursuivre notre but nous avons commencé l'étude de l'interaction de celui-ci avec le PDC.

ETUDE PAR SPECTROMETRIE UV-VISIBLE DE L'INTERACTION PDC-Fe(III)

Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde dans solutions qui contient Fe(III) et PDC

Solutions aqueuses

Du fait que le PDC a une faible solubilité dans l'eau, nous avons préparé une solution mère de PDC 10^{-3} mole.L $^{-1}$ (dans NaOH 0,1 mole.L $^{-1}$).

Une solution mère de Fe $^{3+}$ de concentration 10^{-2} mole.L $^{-1}$ (dans HCl 0.024 mole.L $^{-1}$) a été également préparée. Cette solution mère acide nous permet de garder le Fe $^{3+}$ non hydrolysé dans une solution aqueuse.

Nous avons travaillé avec une solution diluée de Fe $^{3+}$ de concentration 10^{-3} mole.L $^{-1}$ (en HCl 0.0024 mole.L $^{-1}$) faite à partir de la solution mère.

Pour avoir tout d'abord un résultat qualitatif en ce qui concerne une possible interaction entre le Fe $^{3+}$ et le PDC nous avons enregistré la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde ($A=f(\lambda)$), pour une solution préparée comme suit: 8 mL de solution mère de PDC 10^{-3} mole.L $^{-1}$ (dans NaOH 0,1 mole.L $^{-1}$) et 2 mL de solution de Fe $^{3+}$ 10^{-3} mole.L $^{-1}$ (dans HCl 0.0024 mole.L $^{-1}$) ont été mis dans une fiole jaugée. On ajoute ensuite de l'eau distillée jusqu'à un volume total de 25 mL. Le témoin contient la même quantité de PDC et ne contient pas de Fe $^{3+}$. Par contre on y ajoute un volume de 2 mL de solution de HCl 0.0024 mole.L $^{-1}$, équivalent à celui apporté par la solution de Fe $^{3+}$ dans la fiole de référence, pour maintenir la même acidité.

Les spectres ont été enregistrés avec un appareil Specord UV-VIS Carl Zeiss-Jena, muni seulement d'une échelle en valeurs positives d'absorbance. Nous avons travaillé avec des cuves ayant un trajet optique d'un centimètre.

Les spectres sont présentés dans la Figure III.1.

On constate qu'à des longueurs d'onde pour lesquelles le spectre du PDC présente des minima d'absorbance, il y a au contraire des maxima dans le spectre d'une solution qui contient

Fe^{3+} -PDC. C'est une première observation très importante qui nous a conduit à poursuivre l'étude.

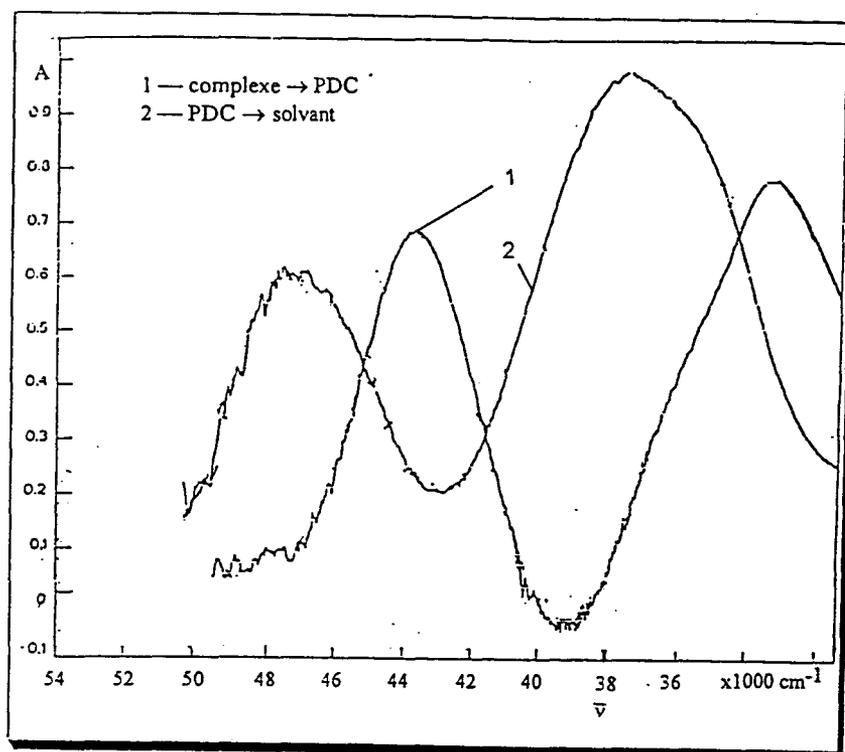


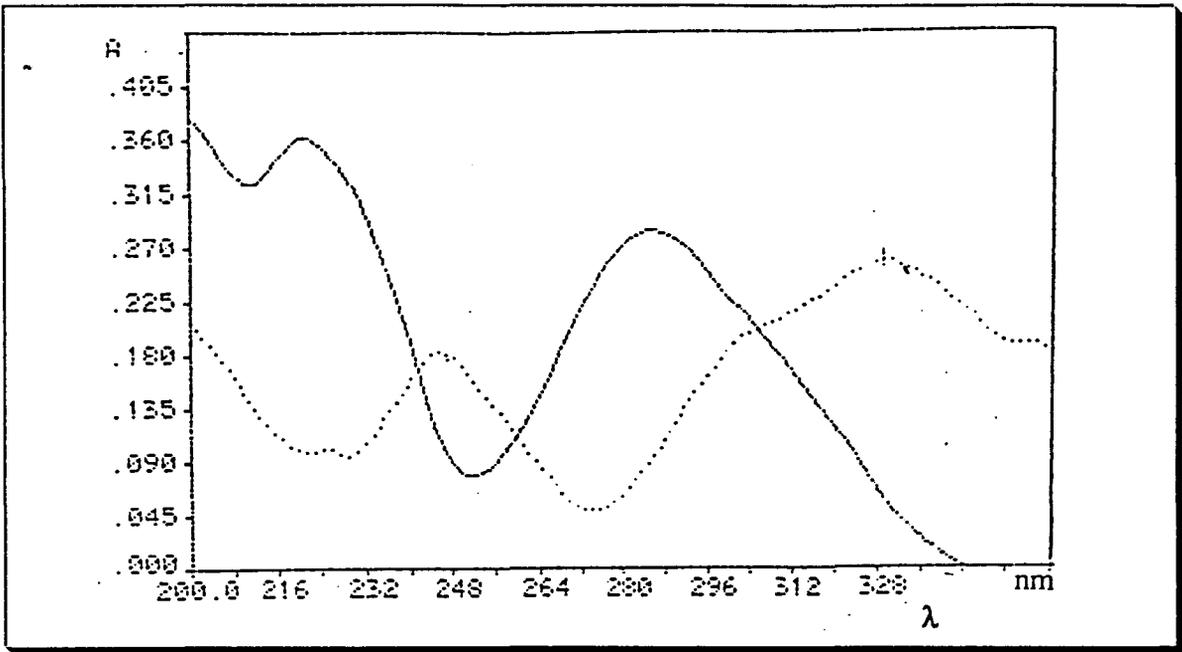
Figure III.1 Spectres UV du PDC (2) et d'une solution qui contient Fe^{3+} et PDC (1) (milieu NaOH 0,1 mole.L⁻¹)

Solution éthanolique

Le même essai préliminaire a été réalisé, en utilisant une solution mère de PDC 10^{-3} mole.L⁻¹ dans l'éthanol à 95% et la même solution diluée de Fe^{3+} 10^{-3} mole.L⁻¹ (dans HCl 0,0024 mole.L⁻¹). La solution de référence a été préparée comme suit: 0,2 mL solution mère 10^{-3} mole.L⁻¹ de Fe^{3+} et 0,8 mL de solution mère de PDC 10^{-3} mole.L⁻¹ sont placés dans une fiole jaugée. Celle ci est complétée jusqu'à un volume total de 5 mL avec de l'eau distillée.

Le témoin a été préparé comme suit : 0,2 mL de solution d'HCl 0,0024 mole.L⁻¹ et 0,8 mL de solution mère de PDC 10^{-3} mole.L⁻¹ sont mis dans une fiole jaugée de 5 mL. Un volume d'eau distillée nécessaire pour arriver au trait de la fiole a été ajouté.

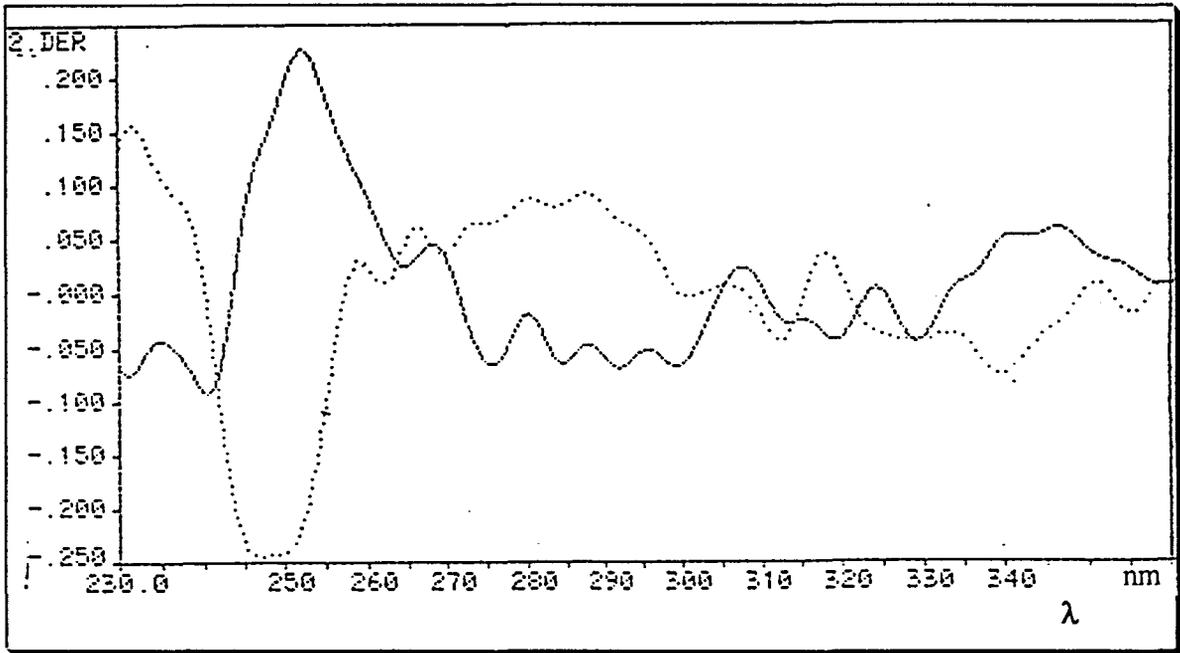
Nous avons enregistré la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde sur un appareil SPECORD M 400 (Carl Zeiss-Jena). Les cuves utilisées ont un trajet optique de 1cm. De plus, l'appareil possède un logiciel qui nous permet d'obtenir aussi des spectres en 2^o dérivée. Nous présentons dans les Figure III.2 les spectres d'ordre 0 et d'ordre 2.



a) spectre d'ordre 0

..... complexe → PDC

— PDC → solvants (eau-éthanol)



b) spectre d'ordre 2

..... complexe → PDC

— PDC → solvants (eau-éthanol)

Fig. III.2 Variation de l'absorbance en fonction de λ pour une solution Fe(III) - PDC

Les principales caractéristiques des spectres enregistrés sont présentes dans le Tableau III.1 et III.2.

Tableau III.1

	λ_{\max} (nm)				$\lg \epsilon_{\max}$		λ_{\min} (nm)				
	PDC	221		292		5,61	4,25	212		254	
Fe ³⁺ + PDC		248		340	5,00	5,02		222		285	

Tableau III.2

	λ_{\max} (nm)				λ_{\min} (nm)				
	PDC		250		344	221		270 - 300	
Fe ³⁺ + PDC	226	270 - 300				247			344

Conclusion

Dans une solution aqueuse ainsi que dans une solution éthanolique, on observe bien une différence entre le spectre du PDC et celui d'une solution contenant PDC-Fe³⁺, qui nous permet de dire qu'il y a une réaction de complexation entre le Fe³⁺ et le PDC.

Ce changement dans l'allure des spectres ne peut pas être attribué à la présence du Fe³⁺ libre, car celui-ci n'absorbe pas dans ce domaine.

Influence du pH sur la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde

Pour étudier l'influence du pH sur la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde, nous avons préparé une série de solutions tampon à partir de solutions mère d'acide acétique $0,2 \text{ mole.L}^{-1}$ et d'acétate de sodium $0,2 \text{ mole.L}^{-1}$. Nous avons mesuré pour chaque solution tampon préparée le pH, à l'aide d'un pH-mètre Tacussel, muni d'une électrode de verre combinée.

La procédure générale est la suivante : dans une fiole jaugée de 25 mL, on introduit 0,5 mL de solution mère $10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ de Fe^{3+} (dans $\text{HCl } 0,0024 \text{ mole.L}^{-1}$), 1 mL de solution de PDC $10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ (dans $\text{NaOH } 0,1 \text{ mole.L}^{-1}$), 5 mL de solution tampon et on complète avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 25 mL. Le témoin a été préparé d'une façon identique : 0,5 mL de solution $\text{HCl } 0,0024 \text{ mole.L}^{-1}$, 1 mL de solution de PDC $10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ (dans $\text{NaOH } 0,1 \text{ mole.L}^{-1}$), 5 mL de solution tampon et on complète avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 25 mL. Comme pour les solutions tampons, nous avons mesuré le pH de chaque fiole jaugée: solution du complexe ou témoin.

Le Tableau III.3 contient les données issues des mesures du pH ainsi que les valeurs de l'absorbance correspondante, mesurées à $\lambda = 250 \text{ nm}$.

L'influence du pH sur la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour le complexe Fe^{3+} -PDC est présenté sur la Figure III.3.

Tableau III.3

pH	2,32	3,90	4,30	4,40	5,00	5,40	8,30
A	0,06	0,130	0,150	0,150	0,148	0,142	0,015

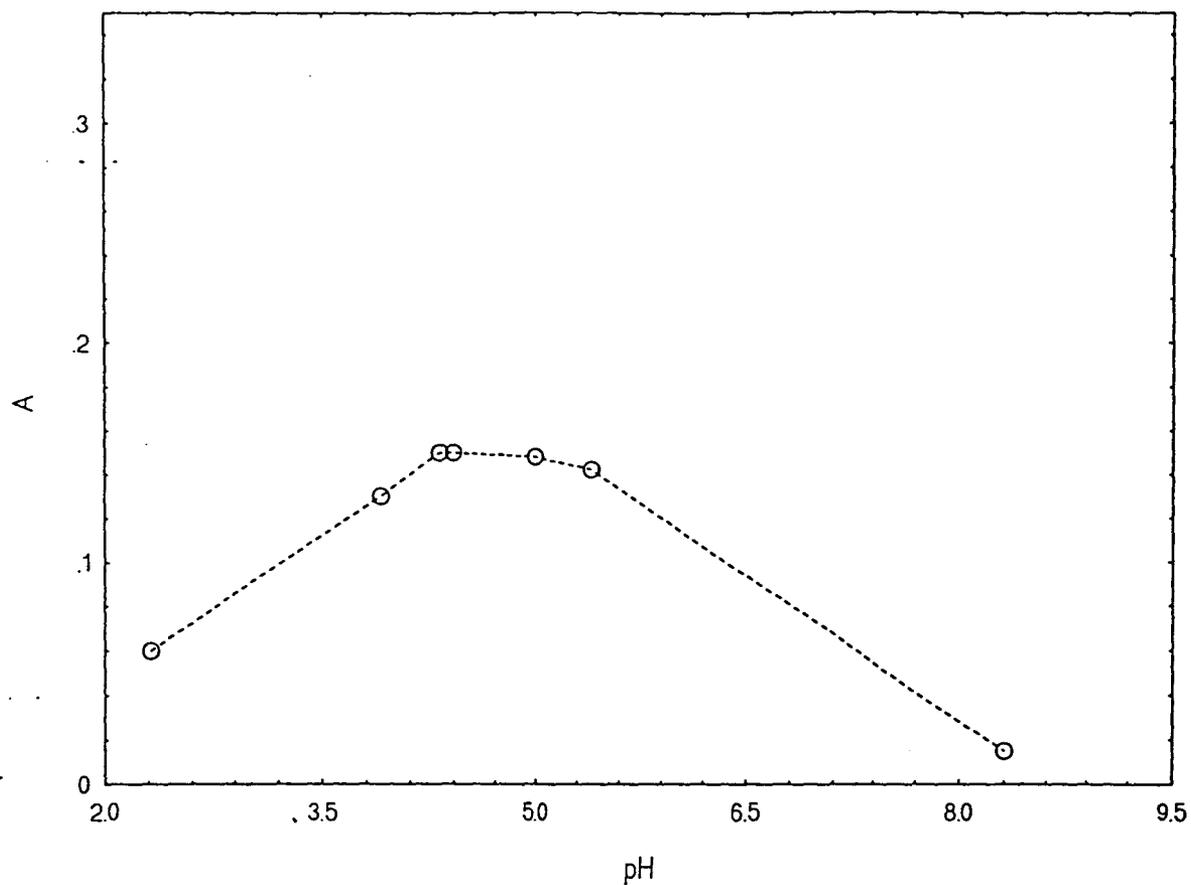


Figure III.3 Influence du pH sur l'absorbance du complexe ($\lambda = 250 \text{ nm}$)

Conclusion

Pour un domaine de pH compris entre 3,90 et 5,40 l'absorbance du complexe reste pratiquement constante.

Détermination du rapport molaire

Pour essayer de caractériser le complexe qui se forme entre le Fe^{3+} et le PDC, nous avons entrepris une étude qui nous permettra de préciser le rapport molaire entre les deux espèces mentionnées.

Le rapport molaire peut être déterminé par plusieurs méthodes:

- *titration spectrométrique d'une solution de cation métallique par une solution de ligand;*
- *titration spectrométrique d'une solution de ligand par une solution de cation métallique;*
- *la méthode de Job pour des solutions isomolaires de cation et de ligand.*

Nous avons utilisé les trois méthodes et nous allons présenter les résultats obtenus pour l'étude en solution aqueuse ainsi que pour celui en solution éthanolique.

Titration spectrométrique du Fe^{3+} par une solution de PDC

Nous avons utilisé des solutions de : Fe^{3+} 10^{-3} mole.L⁻¹ (dans HCl 0,0024 mole.L⁻¹) et de PDC 10^{-3} mole.L⁻¹ (dans NaOH 0,1mole.L⁻¹), ainsi qu'une solution tampon acide acétique-acétate de sodium de pH = 4,85.

Nous avons travaillé avec des fioles jaugées de 25 mL. Le pH est maintenu pratiquement constant à une valeur de 5,20 à l'aide de 10 mL solution tampon.

Les cuves de lectures ont eu un trajet optique de 1 cm.

Dans le Tableau III.4 nous présentons les résultats de cette étude.

Tableau III.4

VOLUME SOLUTION $\text{Fe}^{3+} 10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ (HCl 0,0024 mole.L ⁻¹) (mL)	VOLUME SOLUTION PDC $10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ (NaOH 0,1 mole.L ⁻¹) (mL)	A	
		$\lambda = 250 \text{ nm}$	$\lambda = 344 \text{ nm}$
1	1	0,2	0,16
1	2	0,26	0,375
1	3	0,24	0,54
1	4	0,53	0,58

Dans les Figures III.4 et III.5 nous présentons la variation de l'absorbance en fonction du volume de PDC $10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ (dans NaOH 0,1mole.L⁻¹) utilisé pour un volume constant (1mL) de solution de $\text{Fe}^{3+} 10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ (dans HCl 0,0024 mole.L⁻¹) pour les deux valeurs de longueurs d'onde prises en considération.

Le changement de pente pour la variation $A = f(\text{volume de PDC})$ montre l'existence d'un complexe dont la stoechiométrie peut être calculée.

Conclusion

Comme on le peut constater, le PDC forme avec le Fe^{3+} un complexe dont le rapport molaire est :



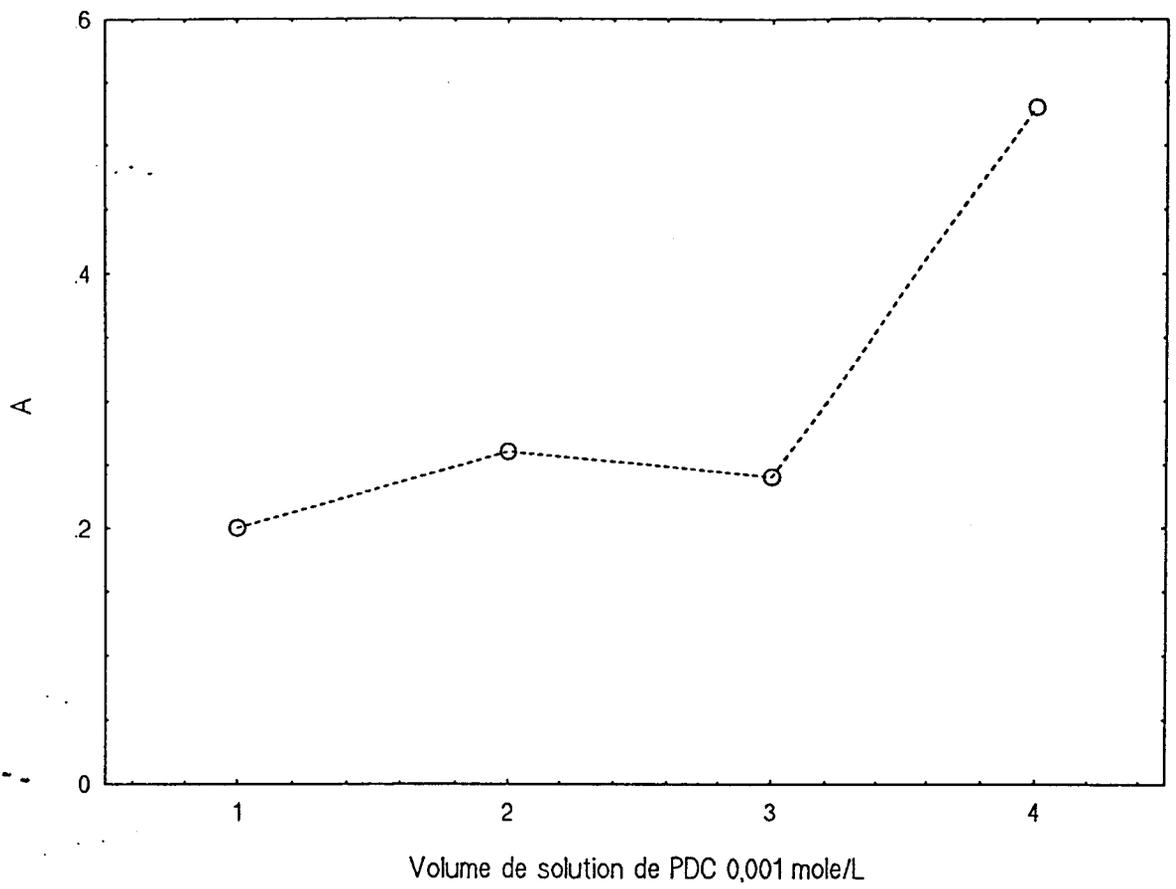


Figure III.4 Titration spectrométrique du Fe^{3+} par une solution du PDC ($\lambda = 250 \text{ nm}$)

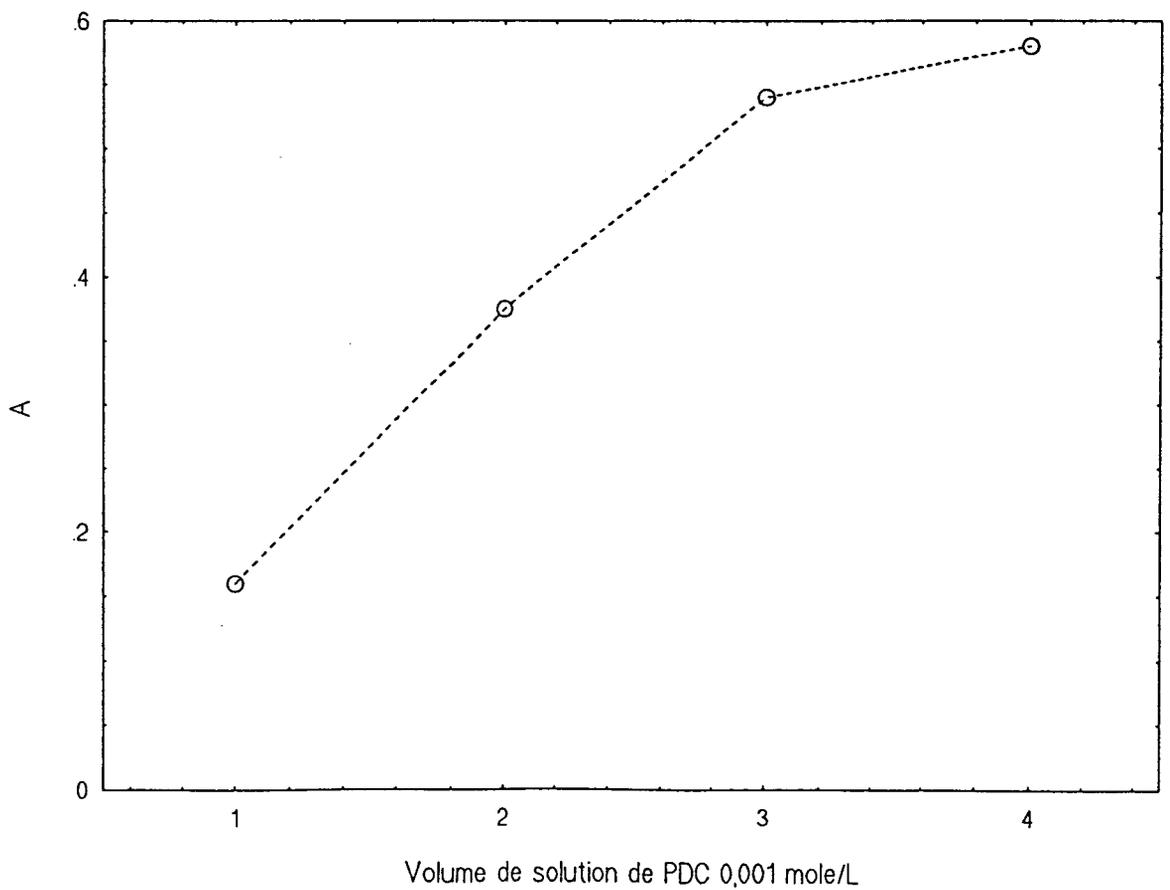


Figure III.5 Titration spectrométrique du Fe^{3+} par une solution du PDC ($\lambda = 344 \text{ nm}$)

Titration spectrométrique du PDC par une solution de Fe³⁺

Pour cette étude nous avons utilisé des fioles jaugées de 10 mL dans lesquelles nous avons mélangé:

- des volumes variables V de solution Fe³⁺ 10⁻² mole.L⁻¹ (dans HCl 5,9.10⁻² mole.L⁻¹);
- 0,6 mL solution PDC 10⁻² mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%);
- un volume (0,6-V_i) mL de solution d'HCl 5,9 10⁻² mole.L⁻¹, afin de maintenir le pH à une valeur constante. Cette valeur a été de 2,45.
- de l'éthanol à 95% pour compléter le volume à 10 mL.

Le témoin a été préparé comme suit:

- 0,6 mL solution PDC 10⁻² mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%);
- 0,6 mL de solution d'HCl 5,9 10⁻² mole.L⁻¹
- de l'éthanol pour compléter le volume à 10 mL.

Les cuves utilisées ont un trajet optique de 1 cm. Les spectres ont été enregistrés sur un appareil Perkin Elmer Lambda 15 et sont présentés dans les Figures III.6 et III.7.

Dans le Tableau III.5 les principales caractéristiques des ces spectres sont reportées.

La variation de l'absorbance en fonction du volume de solution de Fe³⁺ 10⁻² mole.L⁻¹ (dans HCl 5,9 10⁻² mole.L⁻¹) est présentée dans la Figure III.8. Un logiciel de traitement des données expérimentales a été utilisé pour mieux gérer nos informations.

Nous pouvons conclure que le Fe³⁺ forme avec le PDC plusieurs complexes. Le rapport molaire pour chaque complexe formé est déduit à partir de la courbe présentée dans la Figure III.8.

Les points d'inflexion de la courbe Spline sont mis en évidence par sa première dérivée. On observe un maximum à 0,08 mL solution 10⁻² mole.L⁻¹. Cette quantité de Fe³⁺ est trop faible pour la formation d'un complexe avec une stoechiométrie bien définie, mais suffisante pour perturber le système π du PDC. Les autres points d'inflexion situés respectivement à 0,2, 0,3 et 0,48 mL solution Fe³⁺ mettent en évidence la formation des plusieurs complexes:



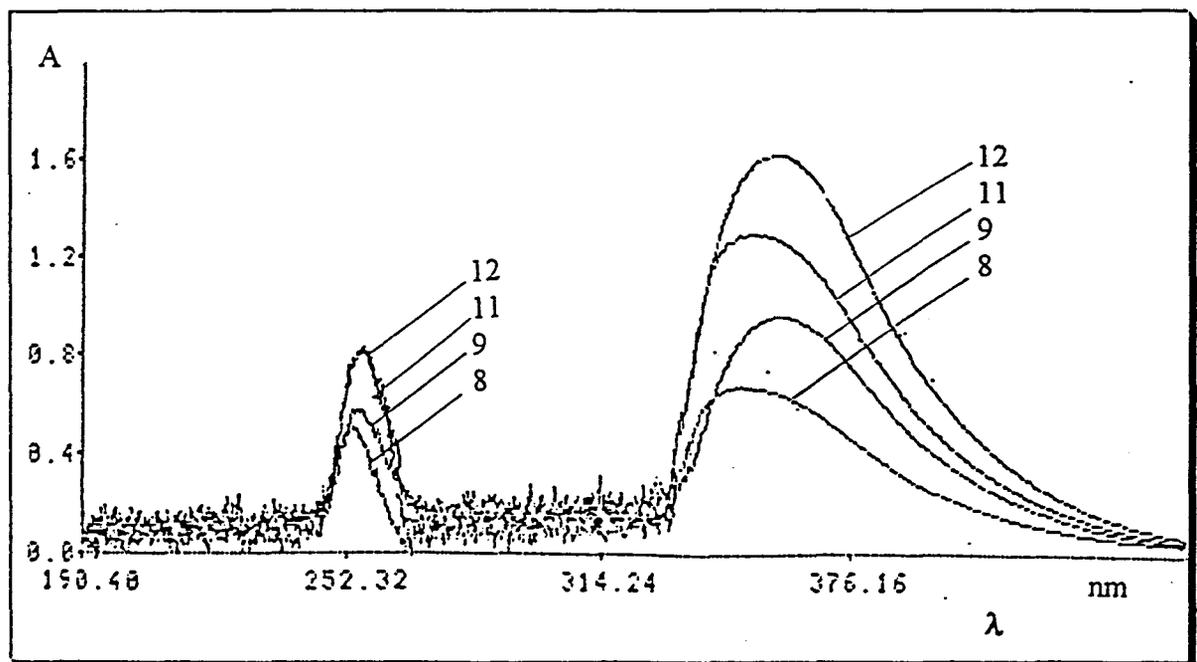
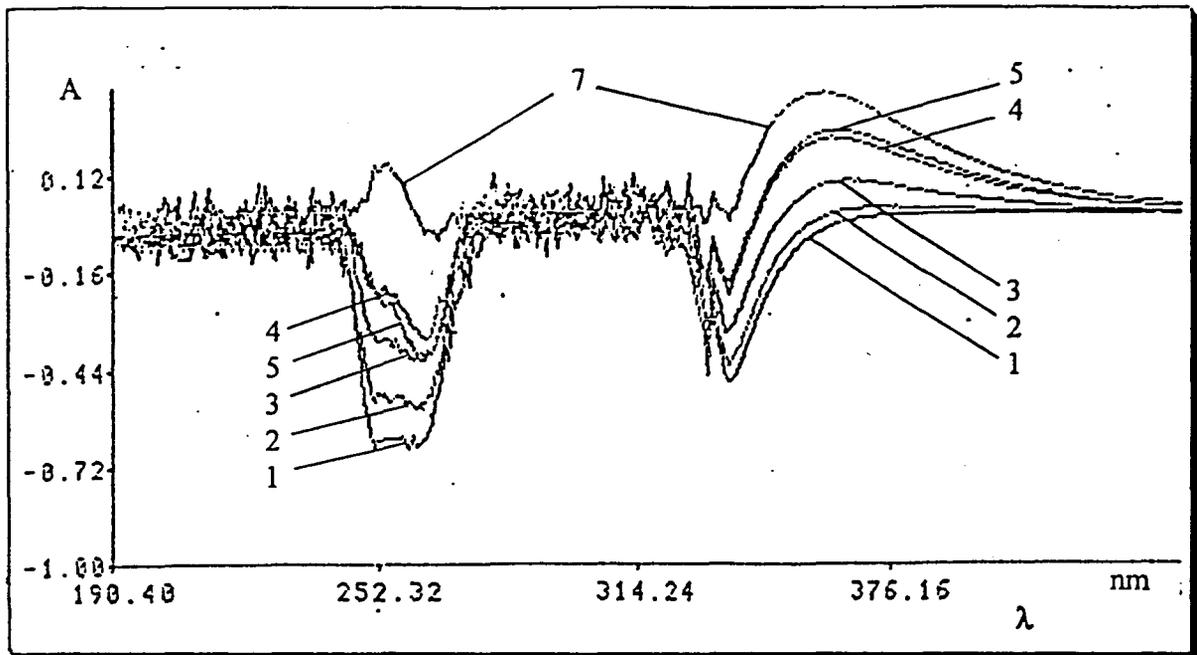


Figure III.6 - 7 Spectres UV pour la titration du PDC par une solution du Fe^{3+}

C O U R B E	Fe ³⁺ 10 ⁻³ mole.L ⁻¹ (mL)	λ_{\max} complexe		λ_{\min} complexe			A λ_{\min} complexe			A _{complexe} λ		A _{complexe} λ_{\max}	
		1	2	1	2	3	254,14	262,33	336,64	255,90	359,11		
1	0,02	-	359,11	254,14	262,33	336,64	-0,680	-0,680	-0,483	-	-0,030		
2	0,05	-	359,11	254,14	262,33	336,64	-0,515	-0,548	-0,440	-	-0,009		
3	0,10	-	359,11	254,14	262,33	336,64	-0,353	-0,429	-0,311	-	0,119		
4	0,15	-	359,11	254,14	262,33	336,64	-0,207	-0,351	-0,186	-	0,227		
5	0,17	-	359,11	254,14	262,33	336,64	-0,246	-0,429	-0,218	-	0,249		
6	0,19	-	359,11	254,14	262,33	336,64	-0,278	-0,440	-0,203	-	0,288		
7	0,20	-			262,33	336,64		-0,030	-0,009	0,152	0,356		
8	0,30	252,32	348,34							0,437	0,646	0,458	0,676
9	0,40	254,00	356,00							0,609	0,969	0,609	0,969
10	0,45	254,00								0,400	0,984		
11	0,50	255,90	352,28							0,815	1,268	0,815	1,323
12	0,60	255,90	356,00							0,815	1,600	0,188	1,600

Tableau III.5

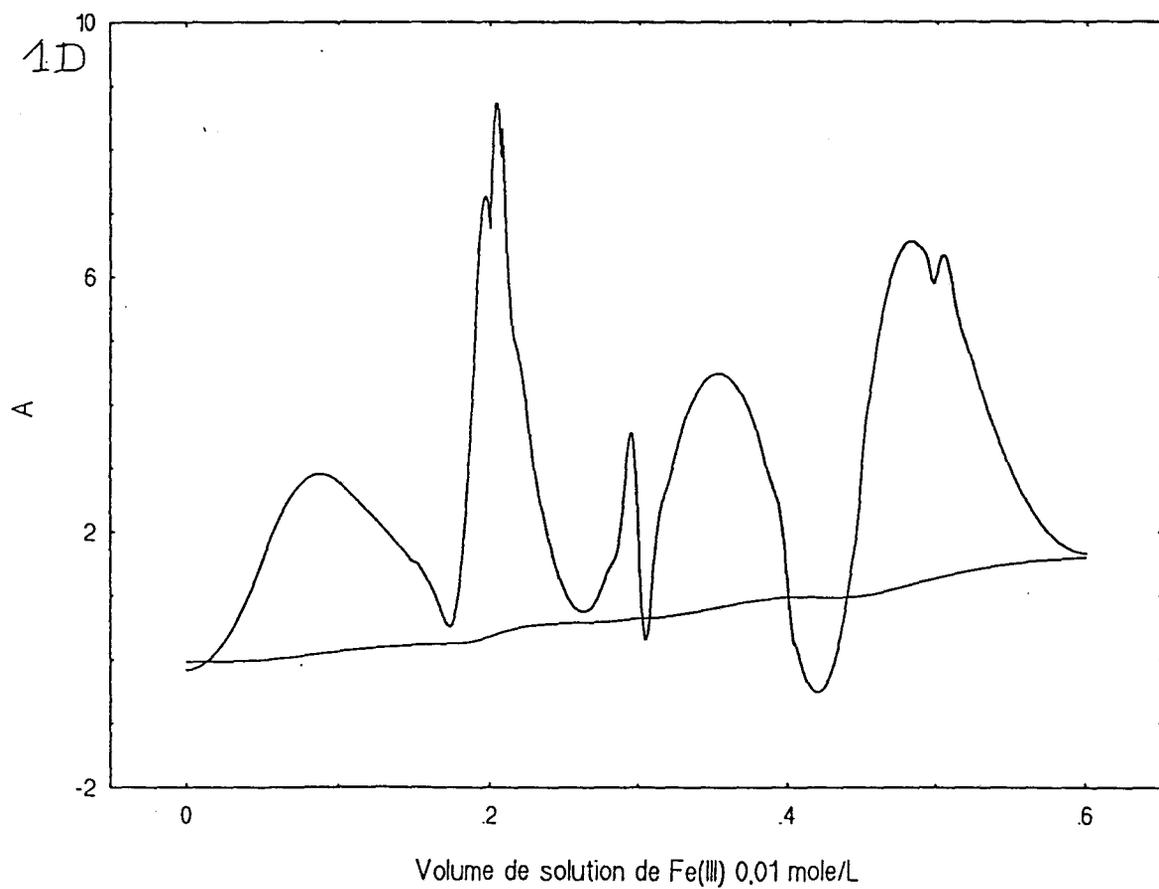
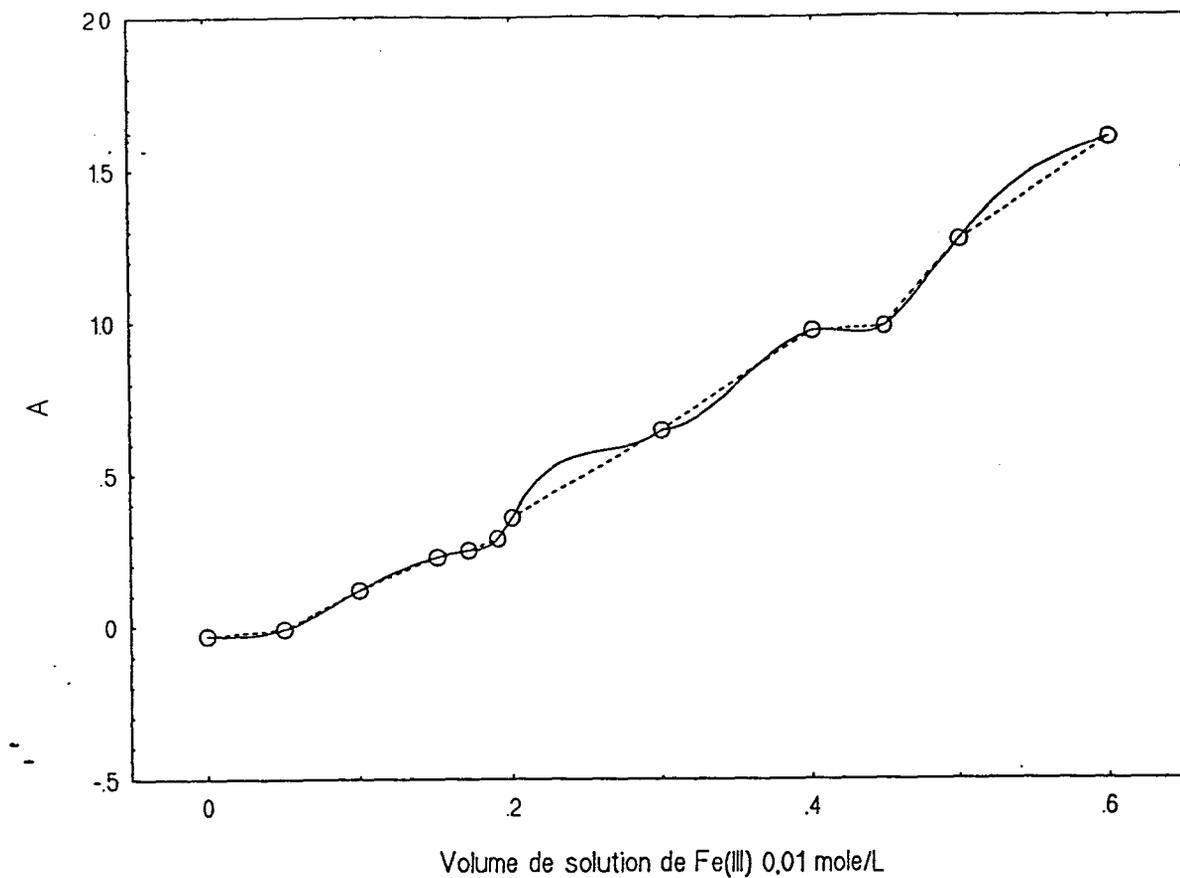


Figure III.8 Titration spectrométrique du PDC par une solution du Fe^{3+} :
 courbe expérimentale
 ——— courbe Spline

La méthode de Job pour des solutions isomolaires

La méthode de Job¹ pour des solutions isomolaires est utile, non seulement pour la détermination du rapport molaire, mais aussi pour les informations supplémentaires qu'elle peut apporter.

La méthode utilise une représentation graphique de l'absorbance en fonction de la fraction molaire du cation (f):

$$f = \frac{[\text{Fe}^{3+}]}{[\text{Fe}^{3+}] + [\text{PDC}]}$$

A partir de l'allure de la courbe de Job ainsi obtenue plusieurs informations sur la composition du complexe peuvent être tirées:

- si la courbe ne présente qu'un seul maximum, il s'agit d'un seul complexe en solution, dont la stoechiométrie peut être déduite;
- si la courbe de Job a un maximum (pour $f = 0,5$) et présente des points d'inflexion d'un côté et de l'autre de ce maximum, l'interprétation en est plus difficile. Généralement on admet qu'il s'agit d'un complexe polynucléaire. Le rapport molaire pour les autres complexes qui se forment peut en être déduit.

Conditions expérimentales

Des solutions de Fe^{3+} $2 \cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ (dans HCl 10^{-4} mole.L⁻¹) et de PDC $2 \cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%) ont été préparées. Des fioles jaugées de 5 mL et des cuves avec un trajet optique de 1 cm ont été utilisées.

Le Tableau III.6 répertorie les conditions dans lesquelles les solutions échantillon ont été préparées, la valeur de f , calculée pour chaque solution ainsi que les valeurs d'absorbance lues à différentes longueurs d'onde. Le blanc spectrométrique contient le même volume de solution de PDC que son échantillon et ne contient pas de Fe^{3+} . Pour maintenir la même

acidité dans la solution témoin on y ajoute un volume d'HCl $\cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ équivalent à celui apporté par la solution de Fe³⁺

Tableau III.6

VOLUME SOLUTION PDC 10^{-3} mole.L ⁻¹	$\frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{3+}] + [PDC]}$	$A_{\lambda = 247 \text{ nm}}$	$A_{\lambda = 330 \text{ nm}}$	$A_{\lambda = 344 \text{ nm}}$
0,1	0,9	0,0639	0,0630	0,0474
0,2	0,8	-0,0019	0,0200	0,0099
0,3	0,7	0,0174	0,0436	0,0329
0,4	0,6	0,0134	0,0457	0,0348
0,5	0,5	0,0301	0,0646	0,0482
0,6	0,4	0,0076	0,0336	0,0191
0,7	0,3	0,0108	0,0450	0,0309
0,8	0,2	0,0082	0,0342	0,0209
0,9	0,1	-0,0126	0,0229	0,0200

Les courbes Job obtenues ainsi que leur traitement mathématique sont présentées dans les Figures III.9, III.10 et III.11.

A partir des courbes Job pour des solutions isomolaires, en utilisant le même traitement mathématique : ajustement des points expérimentaux au moyen d'une courbe de type Spline, dont la deuxième dérivée est calculée, nous pouvons conclure que le Fe(III) forme avec le PDC plusieurs complexes :



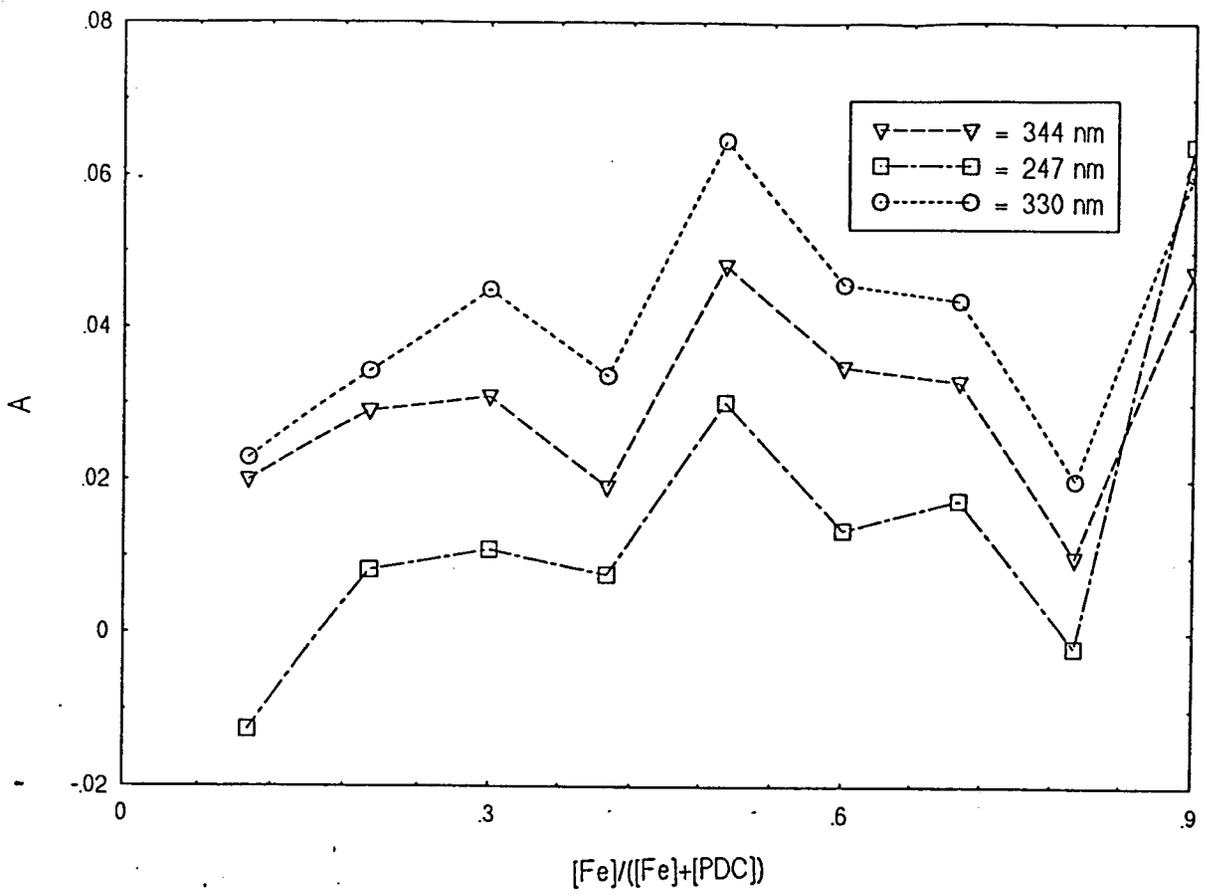


Figure III.9 Courbes Job expérimentales

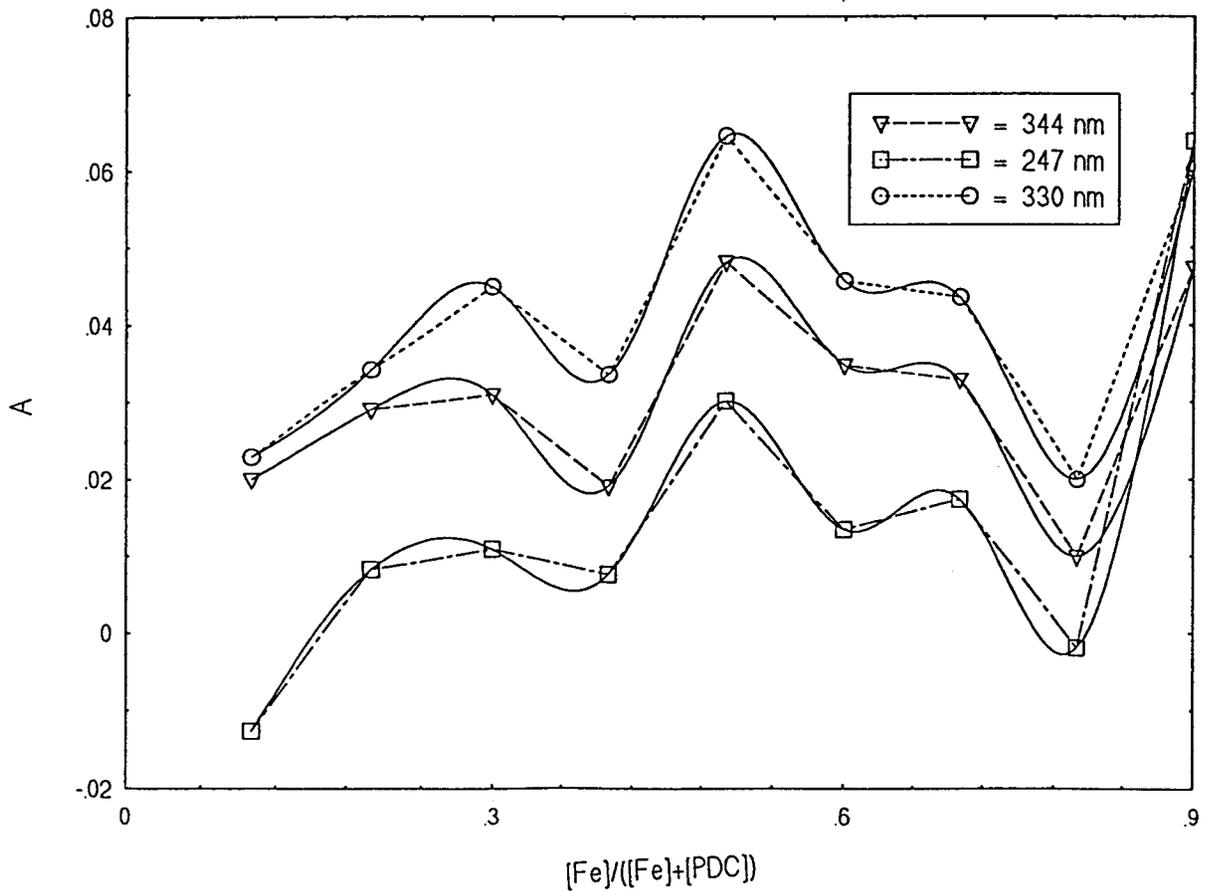


Figure III.10 Traitement mathématique des courbes Job

..... expérimentale
 ———— courbe de type Spline

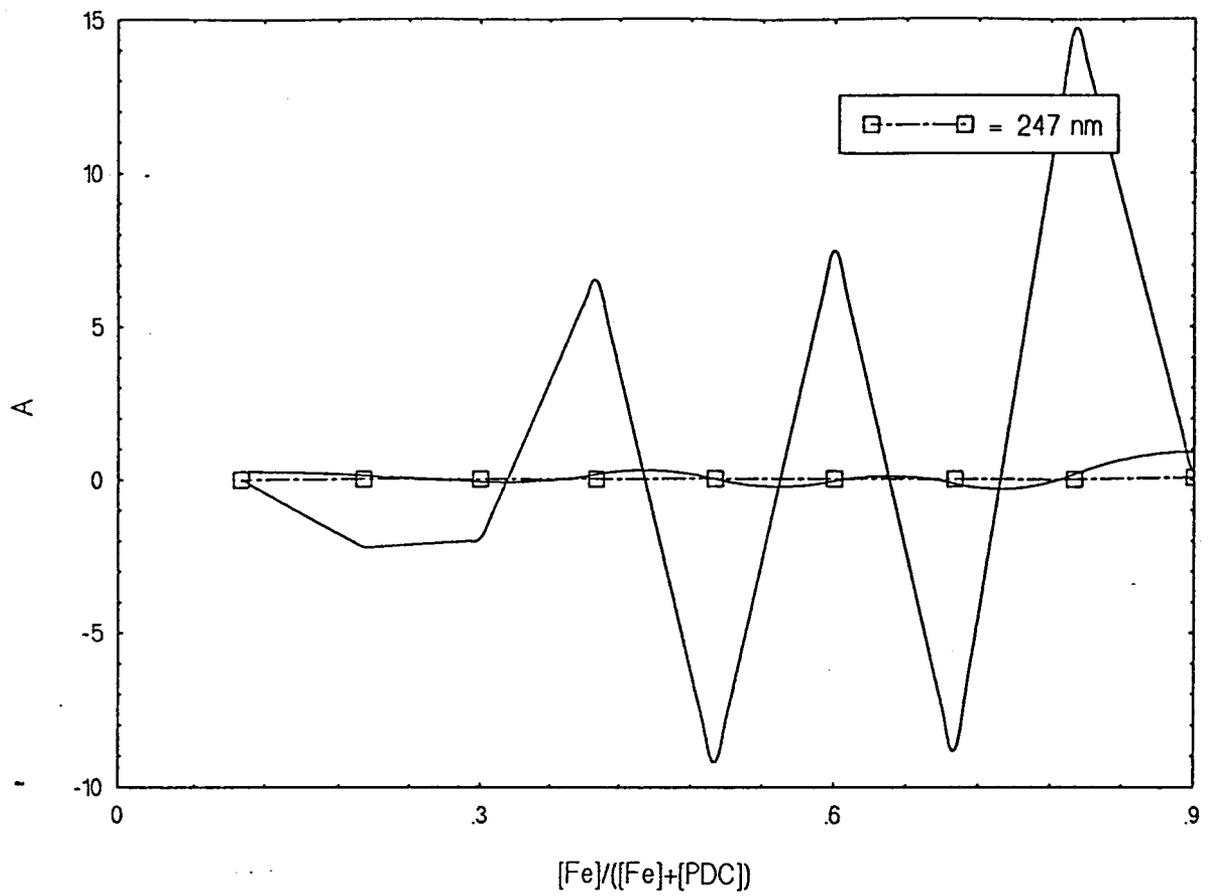


Figure III.11 La 2^o dérivée de la courbe Spline pour $\lambda = 274 \text{ nm}$.

Conclusion

Comme nous l'avons vu, une seule méthode pour déterminer la stoechiométrie d'un complexe est souvent inefficace. Pour essayer d'établir la stoechiométrie du complexe Fe^{3+} -PDC les résultats issus de trois méthodes ont été combinés.

Le Fe^{3+} forme avec le PDC trois complexes



Argumentation en faveur de la réaction de complexation entre le Fe^{3+} et le PDC

Pour argumenter nos résultats et disposant d'un appareil qui nous a permis de faire différentes opérations d'additions ou de soustractions de spectres, nous avons réalisé pour le complexe de rapport molaire $Fe^{3+} : PDC = 2 : 3$ un certain nombre d'expériences afin de montrer qu'il s'agit bien d'un complexe en solution et non d'un mélange physique.

Nous avons donc préparé les solutions suivantes en fioles jaugées de 5 mL (portées au trait avec de l'eau distillée):

- 1)- 0,2 mL $Fe^{3+} 10^{-3}$ mole.L⁻¹ (dans HCl 0,0024 mole.L⁻¹); 0,3 mL PDC 10^{-3} mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%); ("**Fe+PDC**")
- 2)- 0,2 mL HCl 0,0024 mole.L⁻¹; 0,3 mL PDC 10^{-3} mole.L⁻¹ (dans l'éthanol 95%); ("**PDC**")
- 3)- 0,2 mL HCl 0,0024 M; 0,3 mL d'éthanol à 95%; ("**blanc**")
- 4)- 0,2 mL $Fe^{3+} 10^{-3}$ M (dans HCl 0,0024 M); 0,3 mL éthanol 95%. ("**Fe**").

La variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde a été enregistrée comme suit (Tableau III.7 et Figures 12 -15) :

Les spectres d'ordre 2 sont présentés dans la Figure III.16.

Tableau III.7

Solution dans la cuve		SPECTRE		FIGURE
Lecture	Témoin	N°	Code	
Fe + PDC	PDC	1	Fe + PDC / PDC	III.12
Fe + PDC	blanc	2	Fe + PDC / blanc	III.13
PDC	blanc	3	PDC / blanc	III.14
Fe	blanc	4	Fe / blanc	III.15

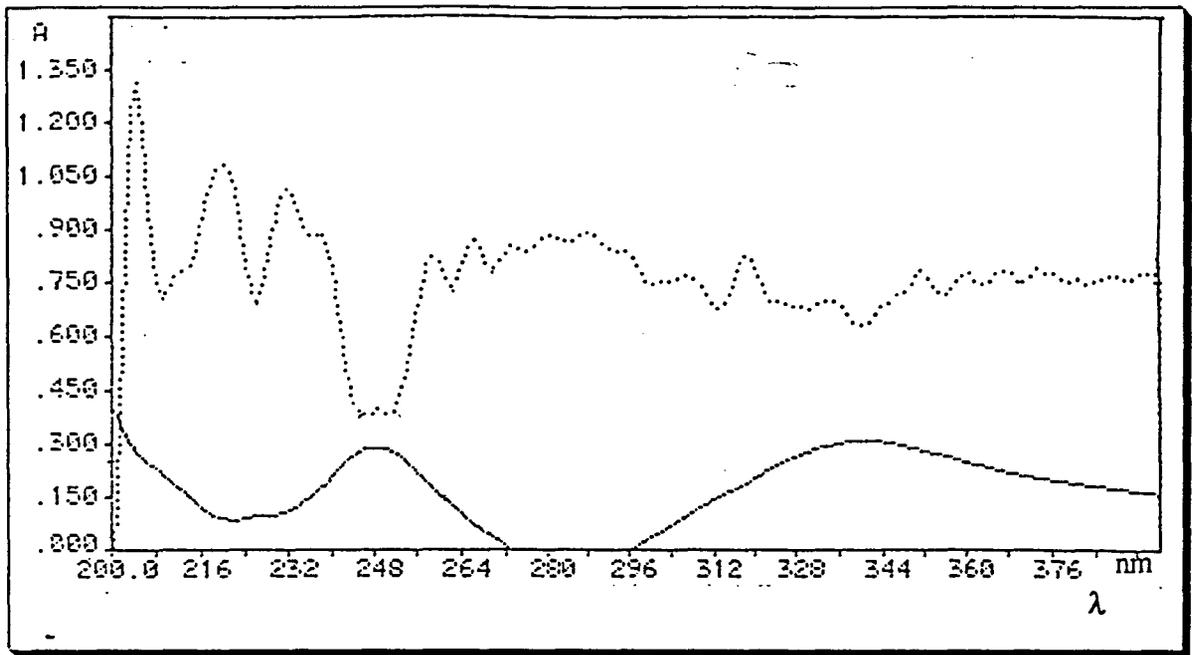


Figure III.12 Spectres d'ordre 0 (—) et 2° dérivée (.....) pour Fe + PDC → PDC

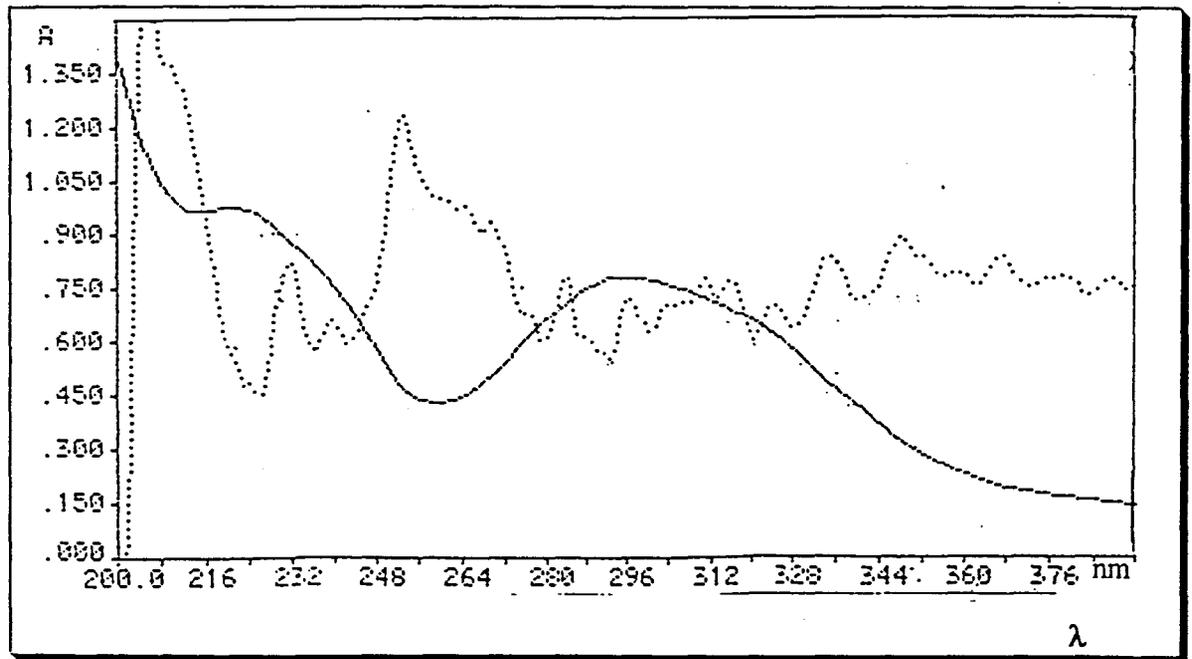


Figure III.13 Spectres d'ordre 0 (—) et 2° dérivée (.....) pour Fe + PDC → blanc

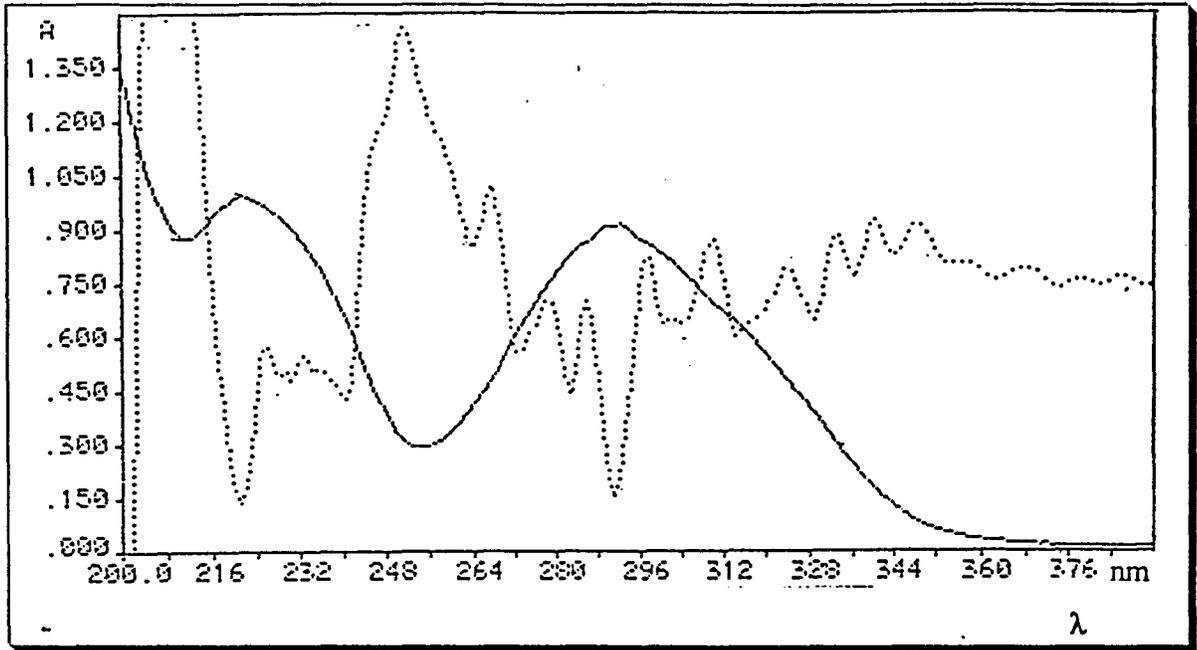


Figure III.14 Spectres d'ordre 0 (—) et 2^o dérivée (.....) pour PDC → blanc

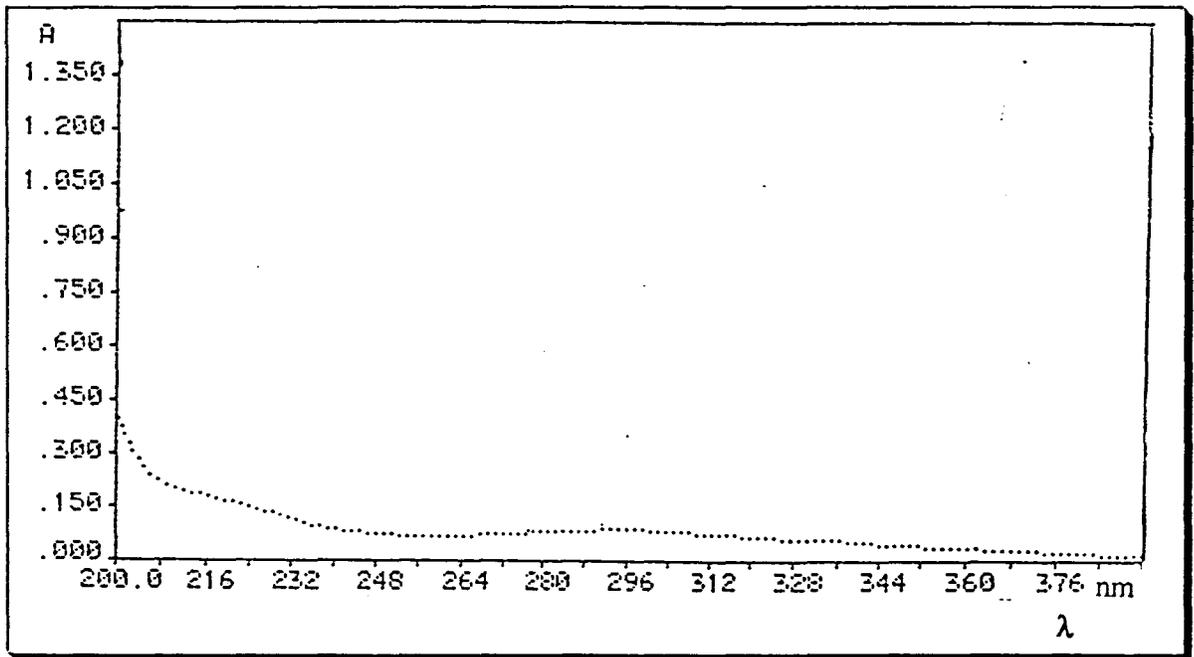


Figure III.15 Spectre Fe → blanc

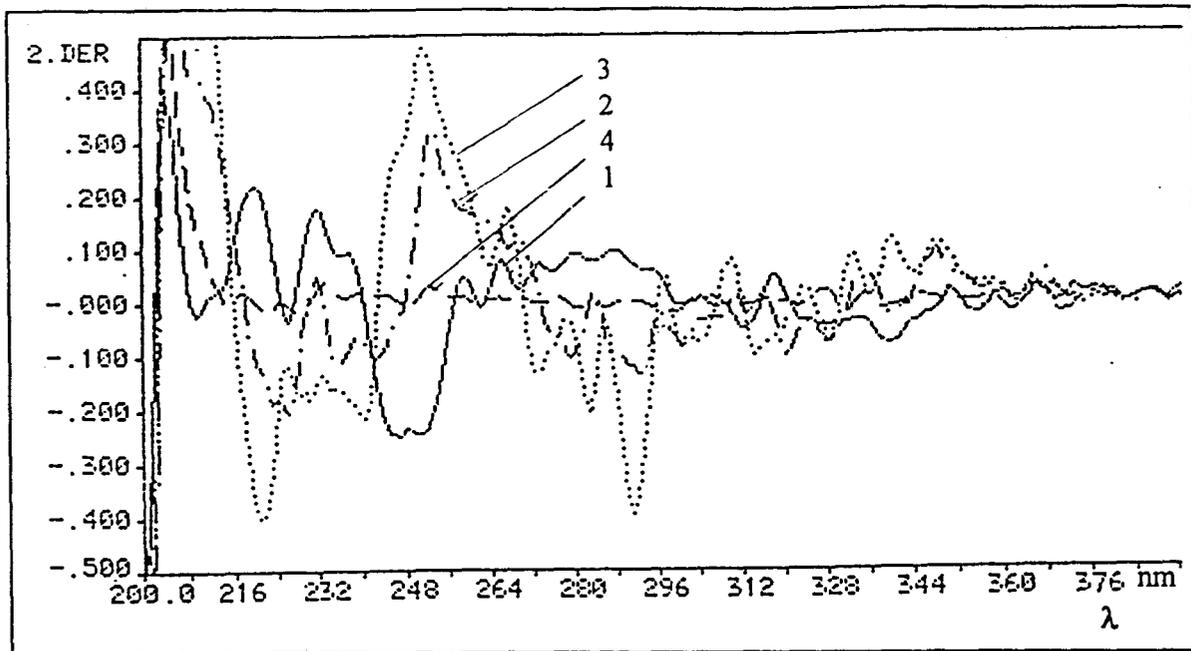


Figure III.16 Spectres 2° dérivée pour le complexe Fe : PDC = 2 : 3

- 1 - Fe + PDC → PDC
- 2 - Fe + PDC → blanc
- 3 - PDC → blanc
- 4 - Fe → blanc

Le code des spectres que nous avons enregistrés ainsi que les codes des différents spectres issus des opérations arithmétiques sont présentés dans le Tableau III.8. Les spectres sont présentés dans les Figures III.17 -III.19.

Tableau III.8

Opération	Spectre résultant	Observation	Figure
(2) - (1)	A	A = spectre du PDC	III.17
(1) - (3)	B	c'est la bande caractéristique pour le complexe	III.18
(3) - (1)	C	* des bandes caractéristiques pour le PDC	III.19

* - l'allure du spectre (C) plus particulièrement le fait que la valeur de l'absorbance pour $\lambda > 328$ nm diminue et devienne négative montre que toute la quantité de PDC a été consommée en réaction avec le fer pour former le complexe de stoechiométrie 2: 3.

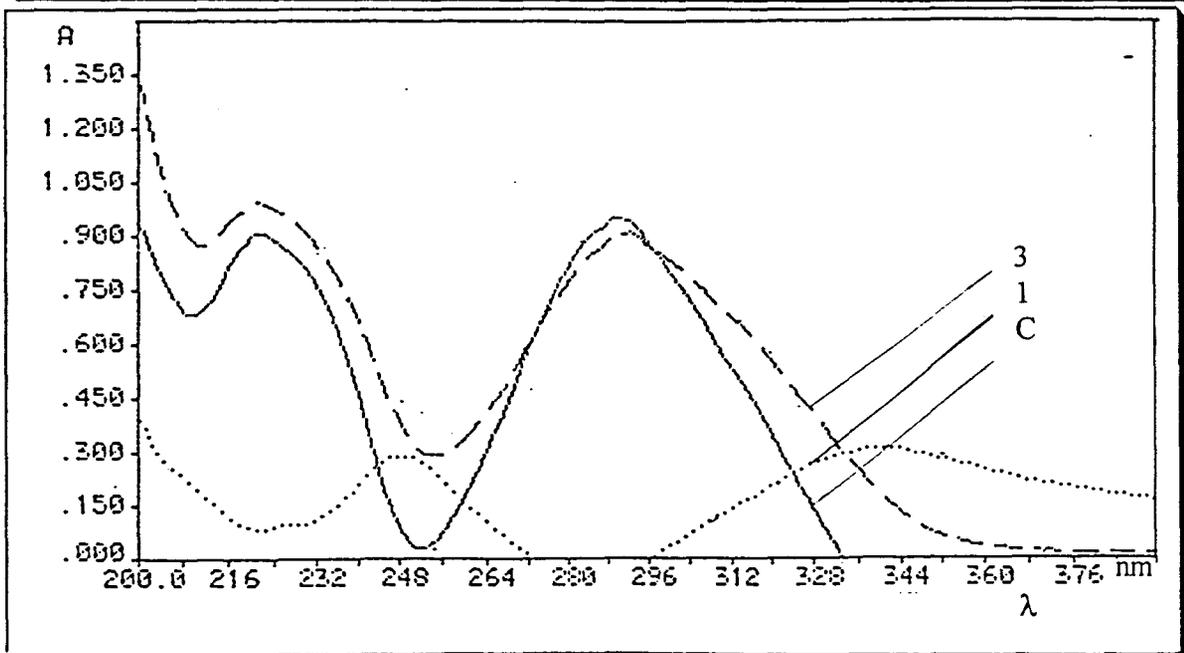
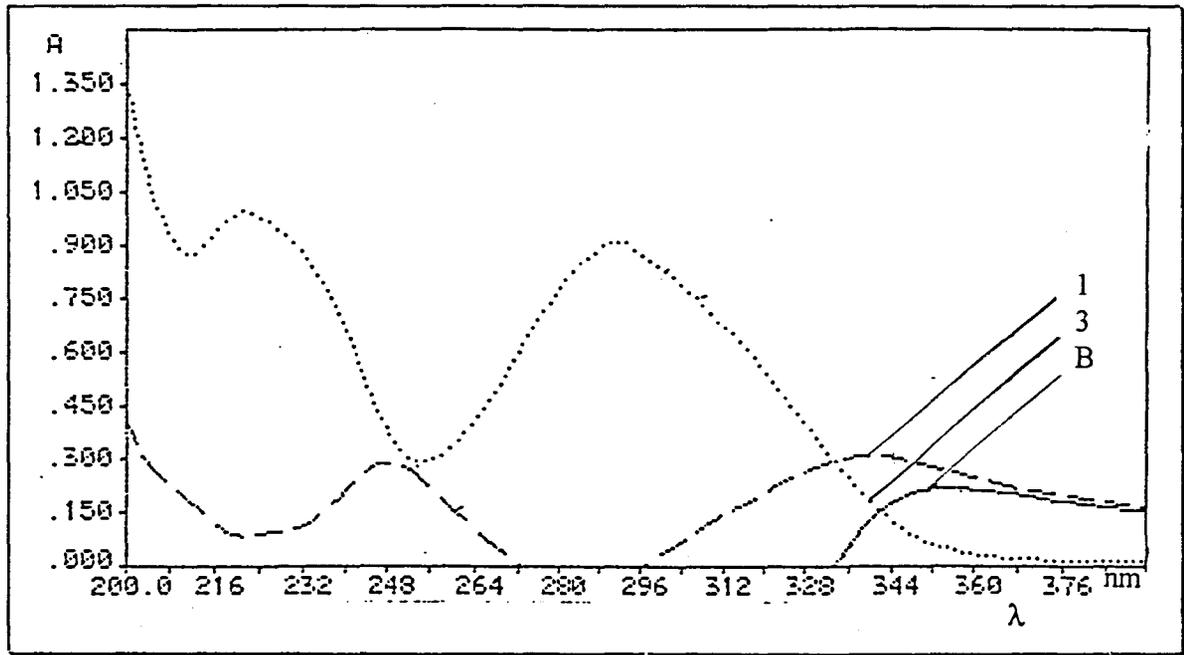
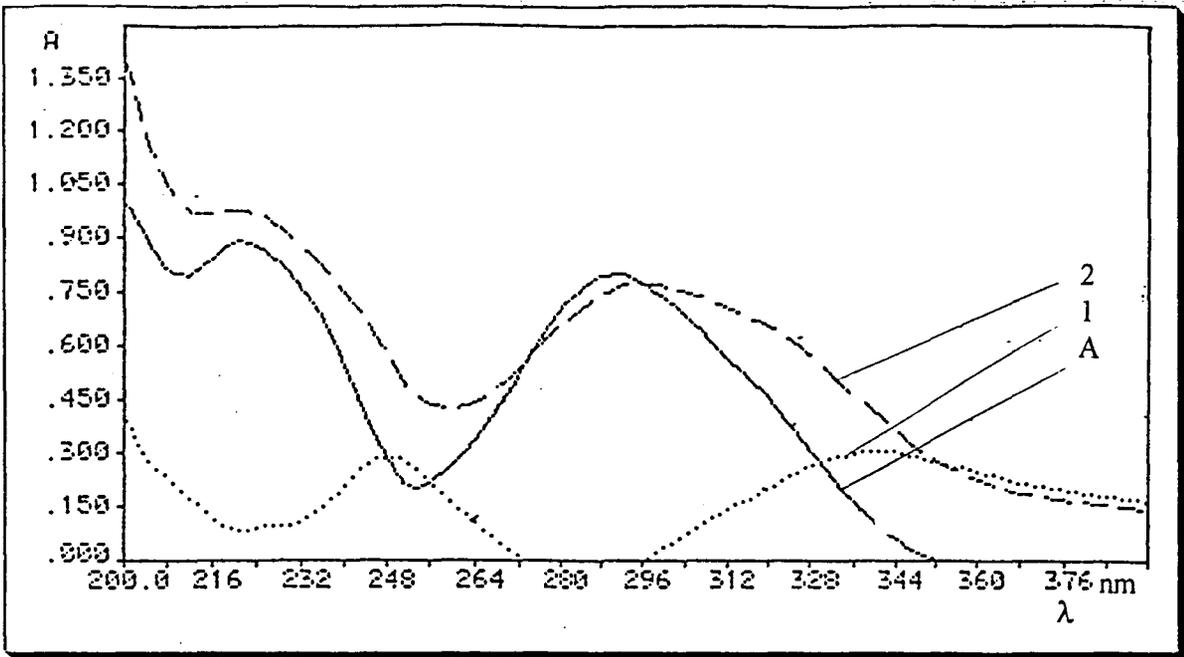


Figure III.17 - 19 Spectres répertoriés dans le Tableau II.8

Le spectre différence (A) est identique au spectre du PDC enregistré par rapport au solvant. On constate que les valeurs d'absorbance du spectre différence (A) sont tout le temps plus petites que les aux valeurs du spectre (A). S'il n'y avait pas une complexation totale de la quantité du Fe³⁺ par le PDC, les valeurs d'absorbance auraient du être plus grandes, dues au PDC non complexé qui se trouvait en solution.

Nous présentons dans le Tableau III.9 les principales caractéristiques de ces deux spectres qui nous intéressent plus particulièrement, ainsi que les valeurs du K défini comme un rapport d'absorbances lues à la même longueur d'onde pour les spectres considérés. On peut donc écrire

$$K = \frac{A_{\lambda_1}^A}{A_{\lambda_1}^3}$$

Tableau III.9

	A _{212nm}	A _{221nm}	A _{253nm}	A _{291nm}	A _{200nm}
A	0,8285	0,9197	0,2347	0,8328	1,0207
3	0,8769	0,9945	0,2901	0,9113	1,3346
K	0,9448	0,9248	0,8090	0,9138	0,7650

La plus grande différence entre les valeurs d'absorbance est signalée pour la bande d'absorption ayant un maximum localisé à 253 nm.

On connaît le fait que la bande CT("charge transfert") du styrène est située autour de la valeur de 248 nm. Pour le spectre du PDC, nous observons un minimum d'absorption pour cette valeur, que l'on a déjà expliqué (page 102) comme étant le résultat de l'augmentation de conjugaison existante dans la molécule.

Par contre, le spectre du complexe ayant un rapport molaire Fe³⁺ : PDC = 2 : 3, présente de nouveau cette bande. On peut avancer que la présence du Fe³⁺ détermine une "localisation" des électrons π du groupement styrénique. Ces électrons deviennent de nouveau excitables à la même valeur de la longueur d'onde caractéristique pour la bande CT du styrène.

La présence du Fe^{3+} brise la conjugaison dont nous avons parlé pour la molécule du PDC.

On constate également un déplacement bathochrome de la bande située à 290 nm. On peut supposer que cette bande est issue de l'interaction des électrons π du groupe prényle avec les électrons π du noyau benzénique qui intègre le motif cinnamique. Le fait que cette bande est déplacée vers des longueurs d'onde plus grandes en présence du Fe^{3+} s'explique par l'apparition d'un nouveau système dont la valeur d'énergie qu'il requière pour passer de l'état fondamental à un état excité, est petite. Ce système est dû à une interaction entre le Fe^{3+} et le nuage d'électrons π appartenant également au noyau benzénique et au groupement prényle.

Un spectre différence entre le spectre de l'acide 3,4 diméthoxycinnamique et le spectre du PDC est présenté dans la Figure III.20. On voit bien l'apparition d'une bande d'absorption à une valeur de la longueur d'onde plus grande que 328 nm, due certainement à une interaction électronique entre les électrons π du noyau benzénique et les électrons p des deux atomes d'oxygène des groupements méthoxy. Cette bande est plus visible dans la Figure III.21 où nous présentons les spectres en seconde dérivée.

Nous avons fait cette ultime remarque pour montrer que la bande d'absorption située à une valeur de 340 nm est caractéristique pour le complexe Fe^{3+} - PDC et qu'il ne s'agit donc pas d'un mélange physique, mais d'une réaction de complexation. Ce fait est visible aussi dans la Figure III.18 (spectre B).

Cette dernière affirmation est soutenue par les Figures III.22 qui rassemble les spectres d'ordre "0" et en seconde dérivée.

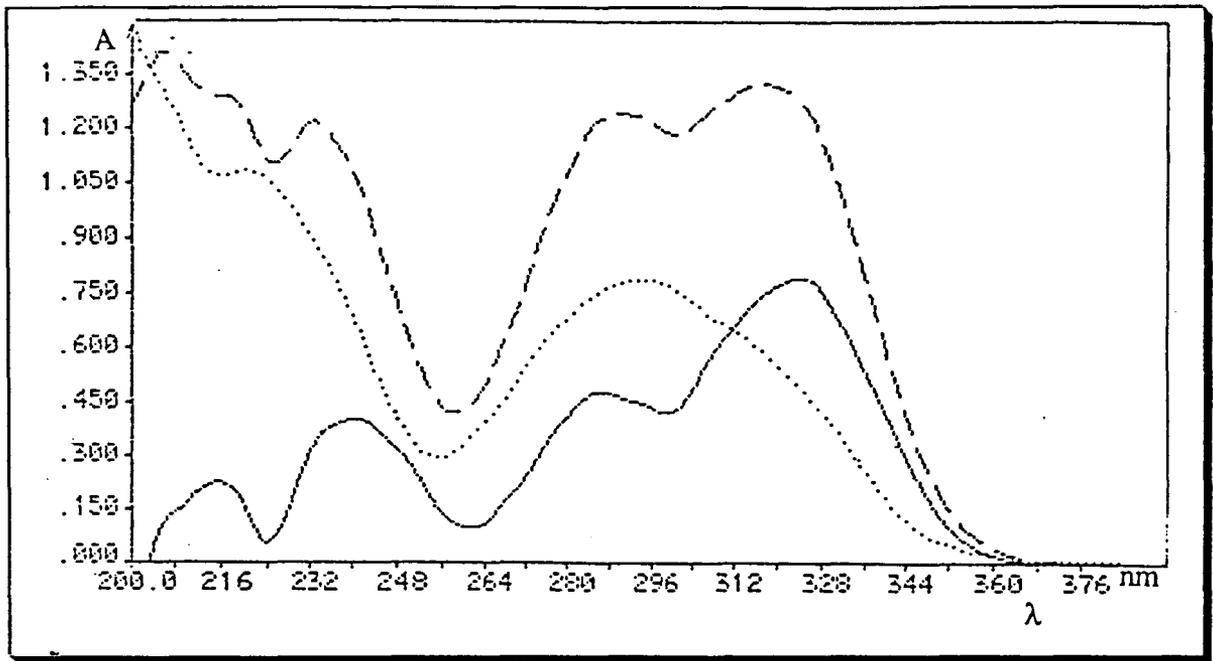


Figure III.20 Spectres UV

- - - - DMC
 PDC
 ——— $D = (DMC) - (PDC)$

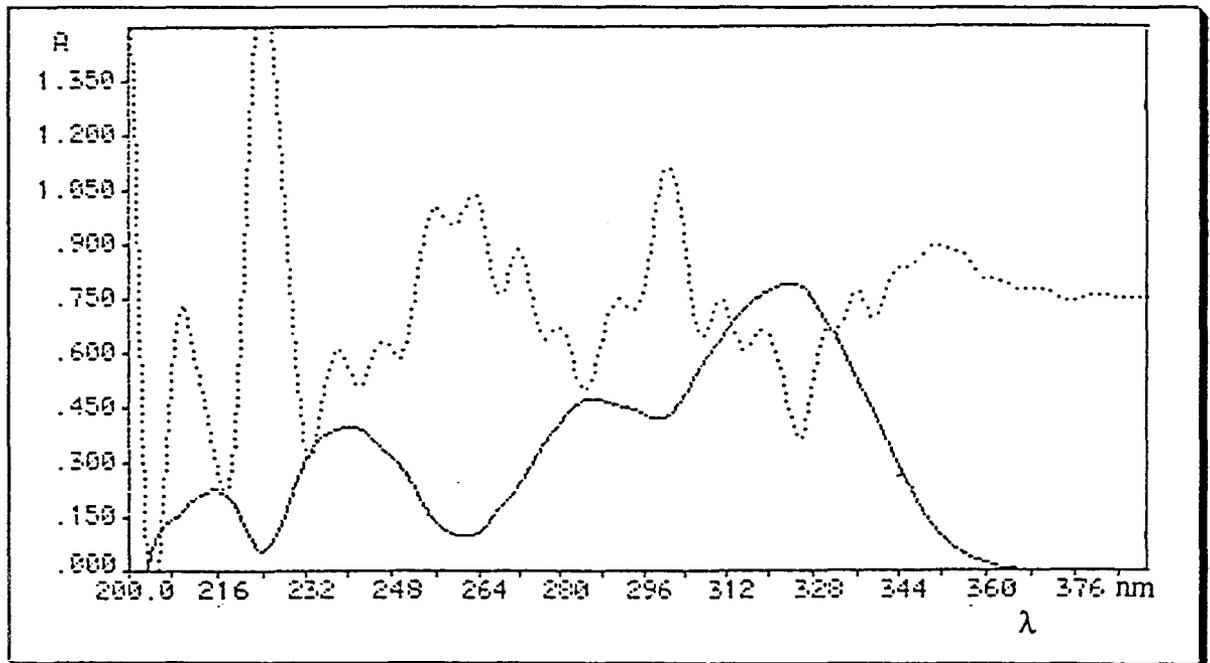


Figure III.21 Spectres UV d'ordre 0 (——) et 2° dérivée (.....) du D

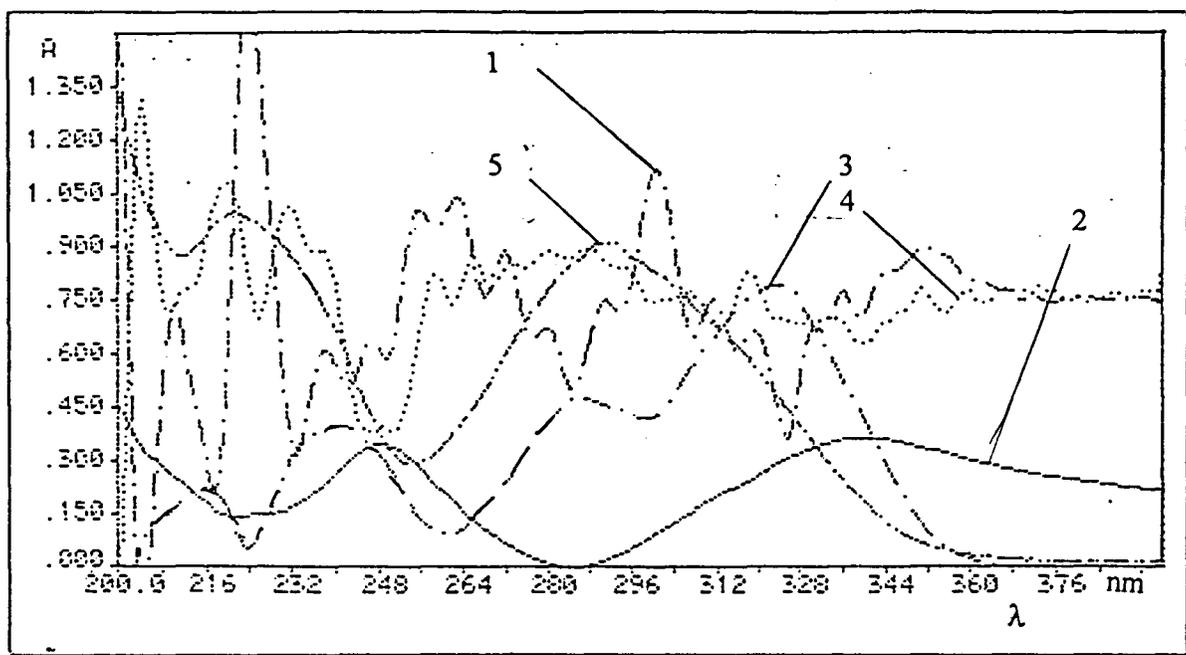


Figure III.22 Comparaison de spectres :
 - d'ordre 0 : 1- PDC → blanc; 2- Fe + PDC → PDC; 3- D;
 - 2° dérivée : 4- Fe + PDC → PDC; 5- D

Conclusion

La présence du Fe^{3+} dans une solution qui contient du PDC brise la conjugaison existante dans la molécule de PDC. Il s'agit d'une réaction de complexation entre les deux espèces.

De plus on peut affirmer que les électrons qui participent à la formation du complexe sont ceux qui appartiennent au noyau benzénique et au groupement prényle.

La bande CT ($\lambda = 248 \text{ nm}$) caractéristique pour le styrène, réapparue dans le spectre du complexe nous confirme qu'il n'y a pas d'interaction entre le Fe^{3+} et la partie cinnamique de la molécule de PDC.

Simulation du spectre UV-VIS pour les divers rapports molaires Fe³⁺-PDC

Fe : PDC = 1 : 1

Nous avons utilisé la banque de données CAChe 1992.

Les géométries ont été optimisées par la méthode MM "Augmente Parameters".

Des calculs mécano-quantiques par la méthode AM1 (méthode semiempirique de calcul avec paramétrisation avancée) ont été utilisés pour obtenir le spectre simulé UV-VISIBLE.

Nous avons pris en considération 9 interactions de configuration.

Dans la Figure II.23 nous présentons le modèle de la géométrie optimisée du complexe Fe(III) : PDC = 1 : 1 ainsi que le spectre électronique simulé.

La simulation des spectres électroniques pour les autres complexes est en train de se finalisée.

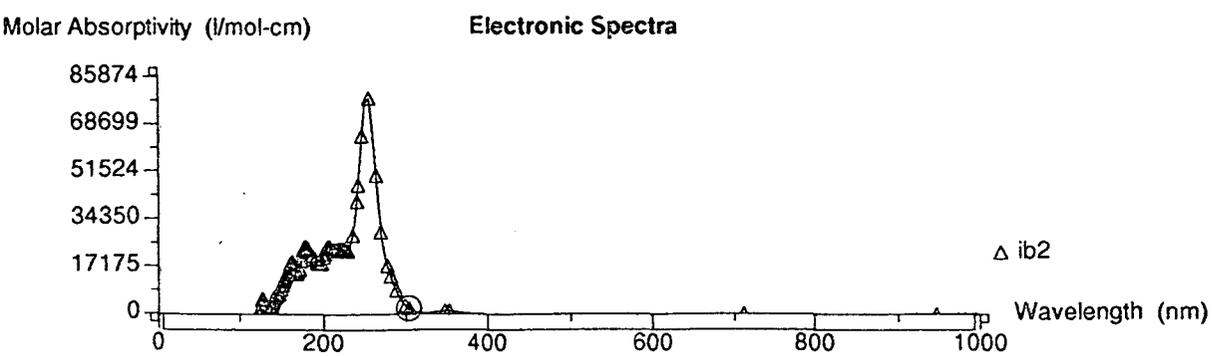
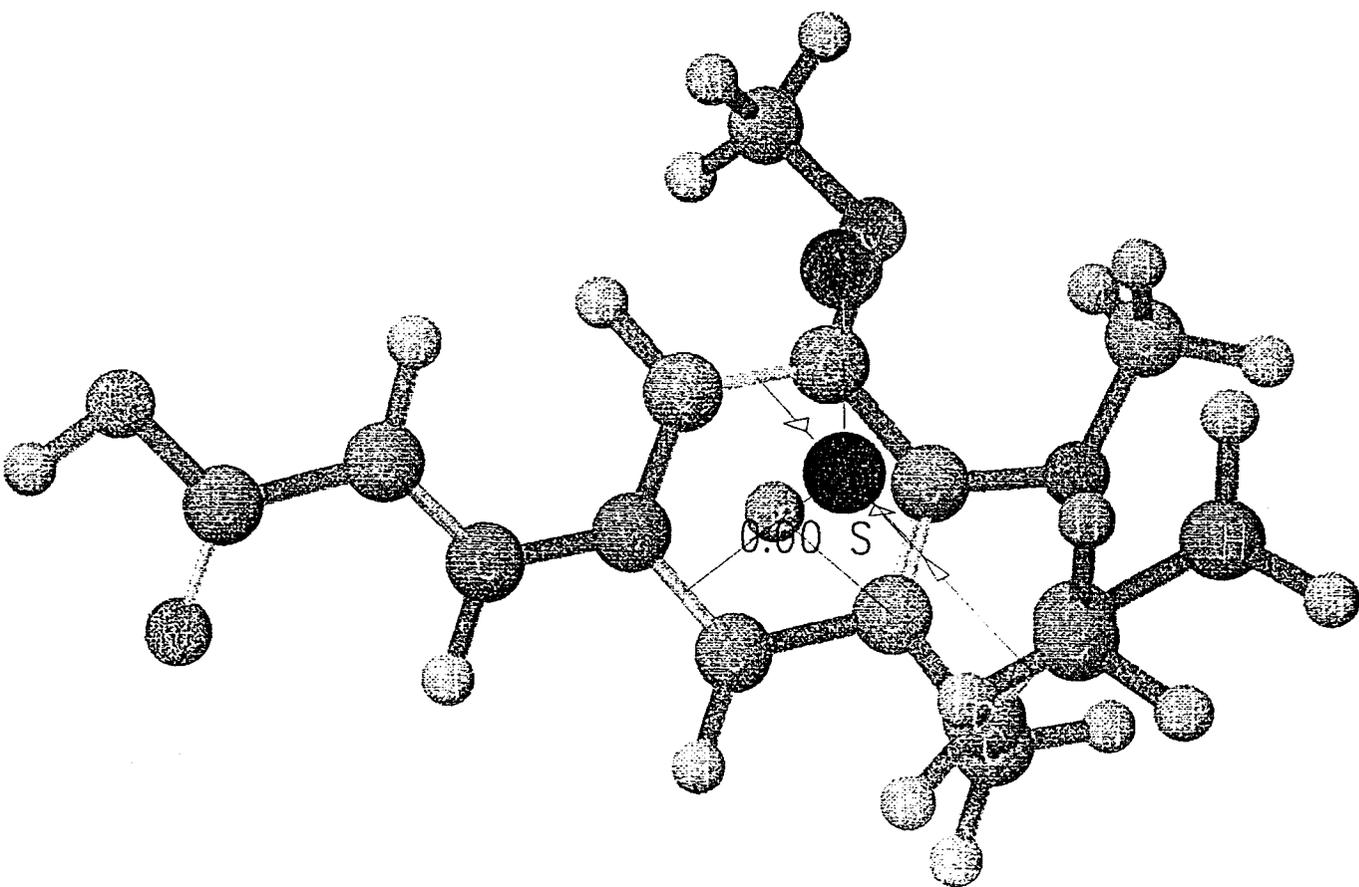


Figure III.23 Géométrie optimisée pour le complexe Fe^{3+} : PDC = 1 : 1 (a) et le spectre simulé (b)

Etude de l'équilibre de complexation

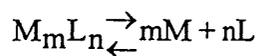
La méthode consacrée pour la détermination de la constante d'un équilibre de complexation est sans doute "*La méthode des variations continues*", connue aussi sur le nom de "Méthode de Job¹ pour des solutions nonisomolaires".

La méthode utilise une représentation graphique de l'absorbance en fonction de la fraction molaire du ligand (f):

$$f = \frac{[\text{PDC}]}{[\text{PDC}] + [\text{Fe}^{3+}]}$$

Nous présentons la formule de calcul pour la constante d'instabilité, à partir d'une courbe Job pour des solutions nonisomolaires.

Pour un équilibre :



la valeur de la constante d'instabilité peut être calculé comme suit :

$$K_i = \frac{c^{m+n-1} \cdot p^{n-1} [(p - m + n)x - n]^{m+n}}{m^{n-1} \cdot n^{m-1} (p - 1)^{m+n-1} [n - (m + n)x]}$$

x : fraction molaire du ligand

p : rapport entre les concentrations molaires du cation métallique et du ligand

c : concentration molaire du cation métallique

n : nombre de coordination

m : charge du cation métallique

Conditions expérimentales

Des solutions de Fe^{3+} $5 \cdot 10^{-4}$ mole.L⁻¹ (dans HCl 10^{-4} mole.L⁻¹) et de PDC 10^{-3} mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%) ont été préparées. Des fioles jaugées de 5 mL et des cuves avec un trajet optique de 1 cm ont été utilisées.

Le Tableau III.10 répertorie les conditions de préparation des solutions échantillon, la valeur de f , calculée pour chaque solution ainsi que les valeurs d'absorbance lues à différentes longueurs d'onde. Le blanc spectrométrique contient le même volume de solution de PDC que son échantillon et ne contient pas de Fe^{3+} . Pour maintenir la même acidité en solution témoin on y ajoute un volume de HCl 10^{-4} mole.L⁻¹ équivalent à celui apporté par la solution de Fe^{3+}

Nous présentons un mode de calcul pour la constante d'instabilité, pour une série des données expérimentales.

Tableau III.10

VOLUME SOLUTION PDC 10^{-3} mole.L ⁻¹	$\frac{[\text{PDC}]}{[\text{Fe}^{3+}] + [\text{PDC}]}$	$A_{\lambda = 250 \text{ nm}}$	$A_{\lambda = 344 \text{ nm}}$
0,1	0,947	0,1224	0,1488
0,2	0,888	0,2751	0,2720
0,3	0,823	0,3635	0,4100
0,4	0,750	0,4891	0,5684
0,5	0,666	0,5321	0,6190
0,6	0,571	0,5442	0,625
0,7	0,461	0,5082	0,461
0,8	0,333	0,3988	0,3538
0,9	0,181	0,2589	0,2270

La courbe Job obtenue est présentée dans la Figure III.24.

Nous avons calculé la stoechiométrie du complexe qui se forme dans les conditions décrites, ainsi que la valeur de la constante d'instabilité, en obtenant $K_i = 6,96 \cdot 10^{-14}$.

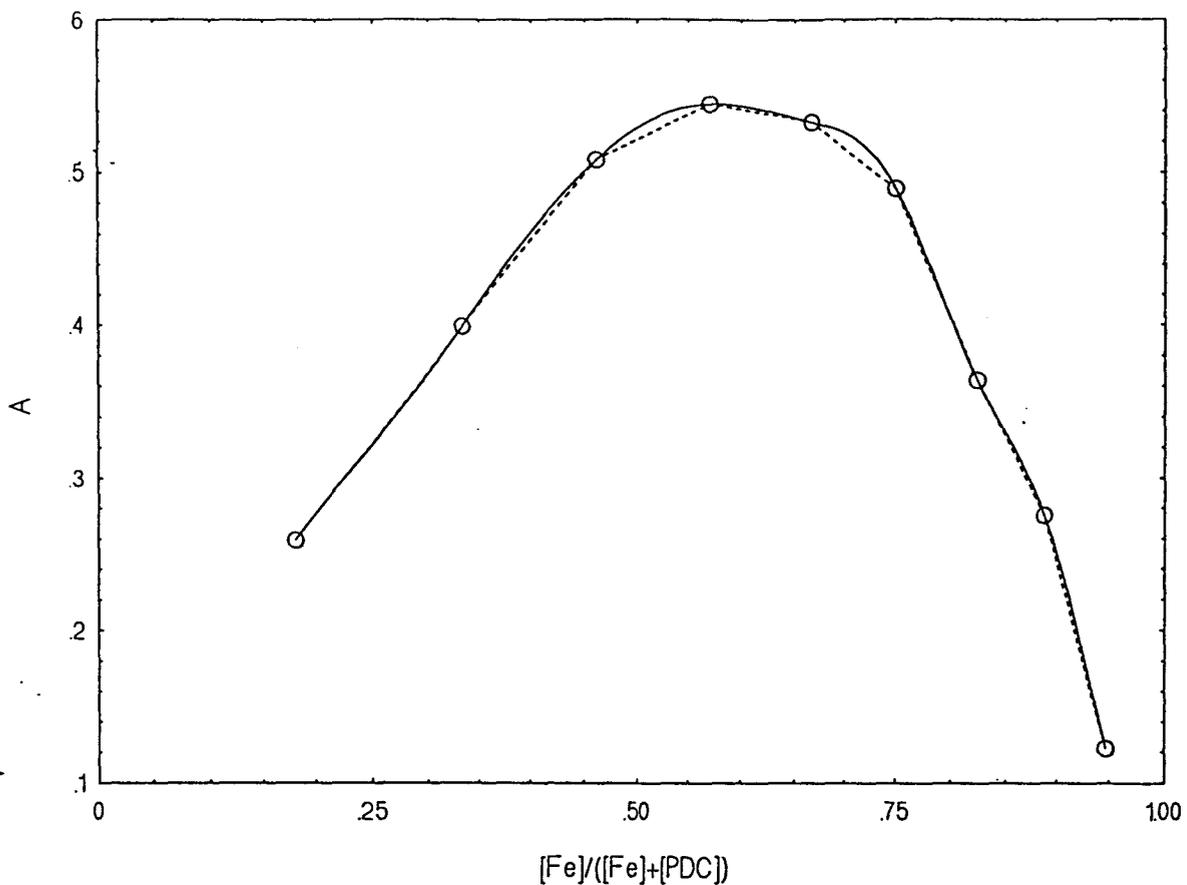


Figure III.24 Courbes Job pour des solutions nonisomolaires

Utilisant la même méthode pour deux autres paires de solutions nonisomolaires de concentrations différentes, nous avons obtenu les résultats présentés dans le Tableau III.11

Tableau III.11

	1	2	3
x	0,58	0,57	0,56
K_i	$6,96 \cdot 10^{-14}$	$6,74 \cdot 10^{-14}$	$6,60 \cdot 10^{-14}$

$$K_i = 6,76 \cdot 10^{-14} \pm 0,2$$

COMPORTEMENT A L'ECHANGE IONIQUE

Comme nous l'avons déjà vu (pag. 121) le PDC est retenu dans des résines DOWEX 1 et 2.

Pour vérifier qu'il s'agit bien d'une réaction de complexation entre le PDC et le Fe^{3+} qui ne fait pas intervenir le groupement carboxylique nous avons étudié le comportement d'une résine échangeuse d'ions en forme PDC en présence du Fe^{3+} .

Pour cette expérience nous avons utilisé des résines en forme PDC activées dans milieu eau-éthanol 1:1.

Nous avons utilisé les deux méthodes : statique et dynamique.

Dans la méthode dynamique nous avons équilibré 0,0976 g de résine sous forme PDC avec 10 mL de solution Fe^{3+} 10^{-3} mole L^{-1} dans milieu eau-éthanol (1:1). Dans ce but le flacon a été fortement agité pendant 2 heures et la résine a été laissée en contact avec la solution encore 24 heures. La résine a été filtrée et lavée avec une solution eau-éthanol (1:1). Le filtrat a été pris dans une fiole jaugée de 50 mL. On y a dosé le Fe^{3+} par spectrométrie en présence du réactif feron, utilisant une droite de calibration ($y = -0,000597 + 0,002314 x$).

Dans la méthode statique nous avons utilisé deux petites colonnes en verre munies chacune d'un robinet et d'un entonnoir avec robinet à clé et rodage. Dans chaque colonne nous avons introduit une quantité de résine DOWEX 2 respectivement x 8 et x 1 sous forme PDC activée dans milieu eau-éthanol. (1:1). 50 mL de solution de Fe^{3+} 10^{-3} mole L^{-1} sont mis dans l'entonnoir. La vitesse de passage de cette solution est de 0,4 mL/min. Les fraction d'effluent sont recueillies dans des fioles jaugées de 50 mL. On y a dosé le Fe^{3+} non fixé par spectrométrie en présence du réactif feron, utilisant une droite de calibration ($y = -0,000597 + 0,002314 x$).

Les résultats issus de l'applications soit de la méthode dynamique soit de la méthode statique sont présentés dans le Tableau III.12.

Tableau III.12

Résine DOWEX	PDC	Fe (III)			L	Méthode
		introduit mole	trouvé dans solution mole	trouvé dans résine mole		
2x10	0,40.10 ⁻⁴	1,00.10 ⁻⁴	0,86.10 ⁻⁴	0,14.10 ⁻⁴	-	D
2x8	0,65.10 ⁻⁴	0,50.10 ⁻⁴	0,02.10 ⁻⁴	0,47.10 ⁻⁴	13	S
2x1	0,44.10 ⁻⁴	0,50.10 ⁻⁴	0,43.10 ⁻⁴	0,07.10 ⁻⁴	6	S

Conclusion

Le Fe³⁺ est retenu dans des résines échangeuses d'anions fortement basiques de type DOWEX sous forme PDC. Ce fait nous permet de conclure qu'à la formation du complexe entre le PDC et le Fe³⁺ le groupement carboxylique du PDC n'intervient pas.

CONCLUSION

Contrairement à ce que l'on aurait pu croire au début de ce travail la complexation du Fe^{3+} ne se fait pas par le groupement acide carboxylique.

L'ensemble des résultats obtenus nous permet d'affirmer maintenant qu'il s'agit d'un complexe qui se forme entre le Fe^{3+} et le système π créé par le groupe prényle et le noyau benzénique.

Cette réaction de complexation n'implique pas la partie cinnamique du PDC (fait mis en évidence par l'apparition dans le spectre du complexe, de la bande situé à 248 nm).

Le fait que le Fe^{3+} soit retenu dans des résines échangeuses d'anions fortement basiques DOWEX en forme PDC est un argument de plus pour soutenir l'affirmation que le groupe carboxylique ne participe pas à la formation du complexe.

ETUDE DE L'INTERACTION DE PDC AVEC D'AUTRES CATIONS D'INTERET BIOLOGIQUE

L'étude en solution des interactions entre le PDC et d'autres cations devient maintenant très importante.

Elle devra répondre à quelques questions:

- la réaction de complexation entre le Fe^{3+} et le PDC est-elle sélective?
- si non quels sont les cations qui réagissent de la même façon avec le PDC?
- que pouvons nous dire sur l'interaction entre le PDC et d'autres cations?

Parmi les cations qui interviennent dans les processus biologiques nous avons opté pour ceux rencontrés les plus souvent dans l'organisme (soit à l'état libre soit dans les sites actifs des enzymes).

Nous avons donc utilisé des solutions de cations métalliques suivants: Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+}

L'étude a été réalisée en solutions éthanoliques et la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde été enregistrée sur un appareil PERKIN-ELMER LAMBDA 15, muni d'un logiciel qui nous a permis de travailler avec une échelle d'absorbance qui descend dans les valeurs négatives.

Nous avons préparé des solutions mère de concentration 10^{-2} mole L^{-1} pour chacun des cations et une solution mère de PDC 10^{-2} mole L^{-1} (dans l'éthanol à 95%). La solution de Fe^{3+} a une concentration de 10^{-2} mole L^{-1} (dans HCl $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole L^{-1}).

Pour cette étude nous avons utilisé des fioles jaugées de 10 mL dans lesquelles nous avons mélangé:

- 0,2 mL de solution aqueuse de cation métallique 10^{-2} mole L^{-1} ;
- 0,6 mL de solution PDC 10^{-2} mole L^{-1} (dans l'éthanol à 95%);
- de l'éthanol à 95% pour compléter le volume à 10 mL.

Le blanc spectrométrique a été préparé comme suit*:

- 0,6 mL solution PDC 10^{-2} mole L^{-1} (dans éthanol à 95%);
- de l'éthanol à 95% pour compléter le volume à 10 mL.

*dans le blanc correspondant à la solution qui contient le cation Fe^{3+} , on ajoute 0,2 mL HCl $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole L^{-1} .

La variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour chacun des cations étudiés est présentée dans les Figures III.25 - III.30.

Les résultats issus de l'enregistrement de la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour chaque ion métallique sont présentés dans le Tableau III.13.

Tableau III.13

	λ_{max}		A_{max}		λ_{min}		A_{min}	
	(nm)				(nm)			
Fe^{3+}	254,78	345,42	1,114	0,740				
Co^{2+}					248,66	331,54	-0,491	-0,600
Ni^{2+}					248,66	331,54	-0,300	-0,238
Mg^{2+}					249,40	332,15	-0,342	-0,232
Cu^{2+}	256,12			0,306		331,64		-0,156
Zn^{2+}					249,81	330,78	-0,206	-0,310
<i>PDC</i>	206,69	293,05			255,39-257,8			

Le Cu^{2+} semble être le seul cation à interagir d'une façon qui met en évidence l'existence d'une bande d'absorption ayant un maximum à 256,12 nm.

Par contre il n'y a pas de bande située dans la région des valeurs des longueurs d'onde supérieures à 348 nm. Dans cette région le complexe du Fe^{3+} avec le PDC présente une bande d'absorption caractéristique.

Ces observations nous permettent d'affirmer seulement qu'il y a une interaction entre le cation Cu^{2+} et le PDC. La bande d'absorption correspondante à 256 nm est caractéristique du groupement cinnamique.

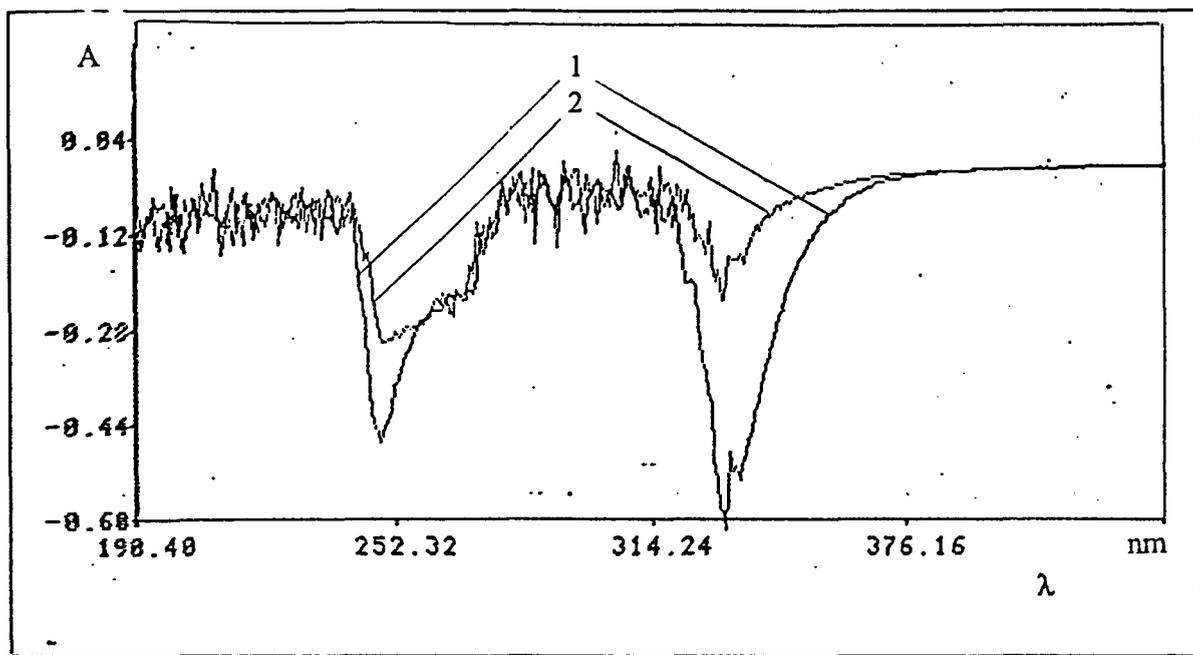


Figure III.25 Spectres UV
 1- $\text{Co}^{2+} + \text{PDC} \rightarrow \text{PDC}$
 2- $\text{Ni}^{2+} + \text{PDC} \rightarrow \text{PDC}$

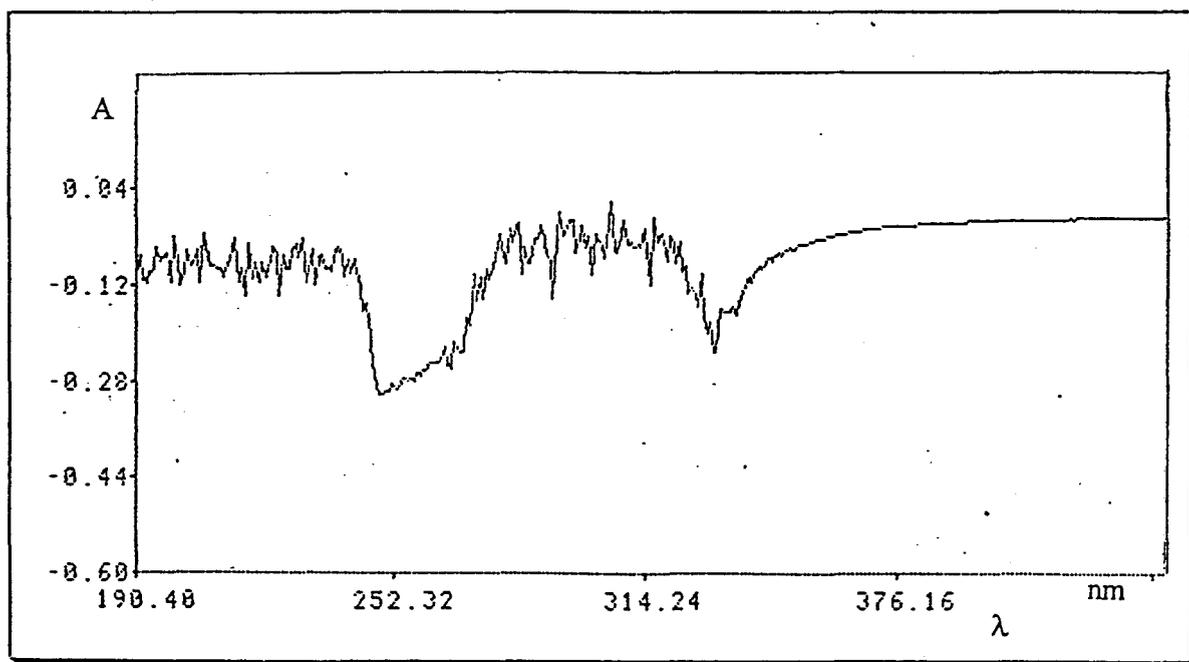


Figure III.26 Spectres UV : $\text{Zn}^{2+} + \text{PDC} \rightarrow \text{PDC}$

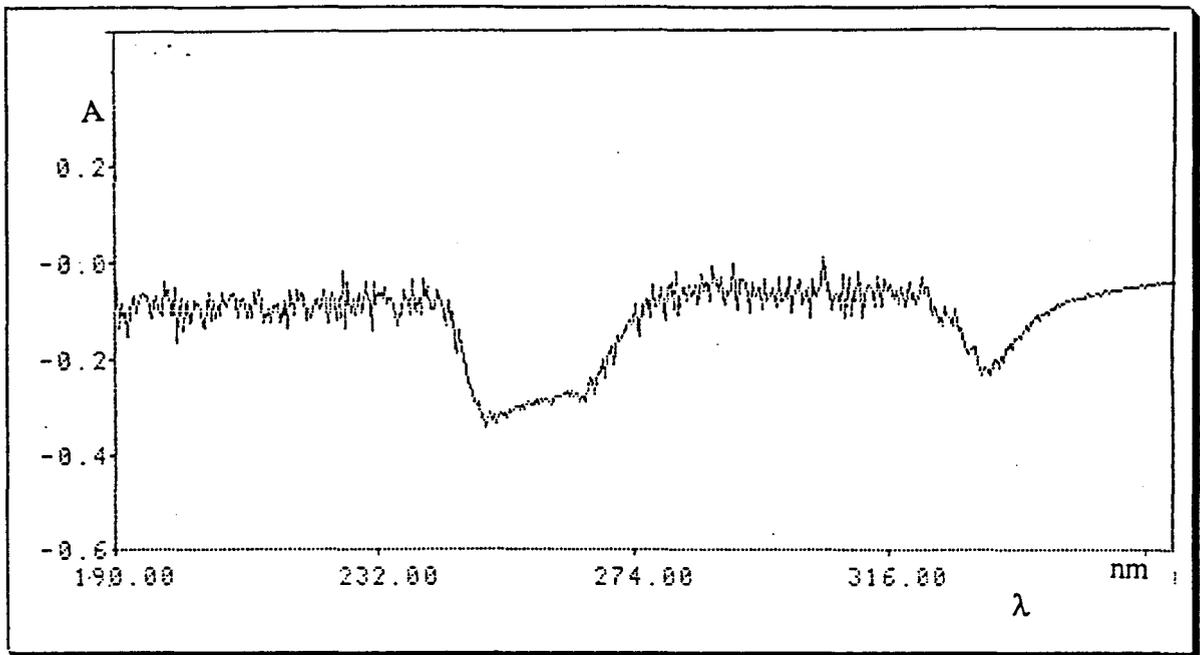


Figure III.27 Spectre UV : $Mg^{2+} + PDC \rightarrow PDC$

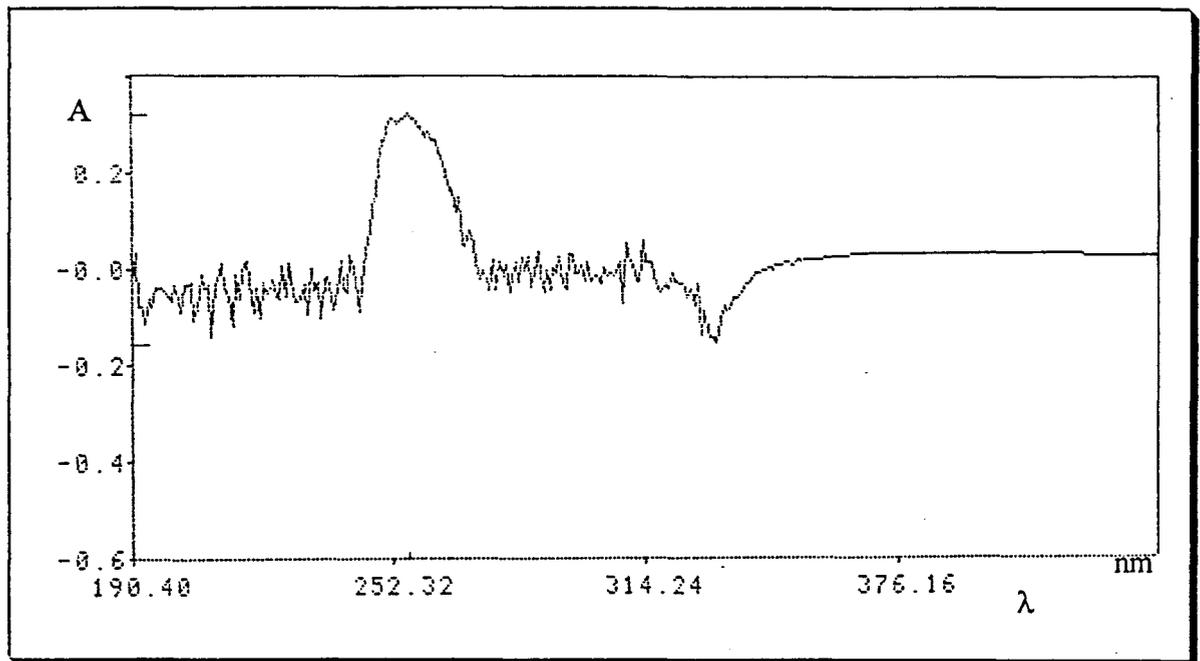


Figure III.28 Spectre UV : $Cu^{2+} + PDC \rightarrow PDC$

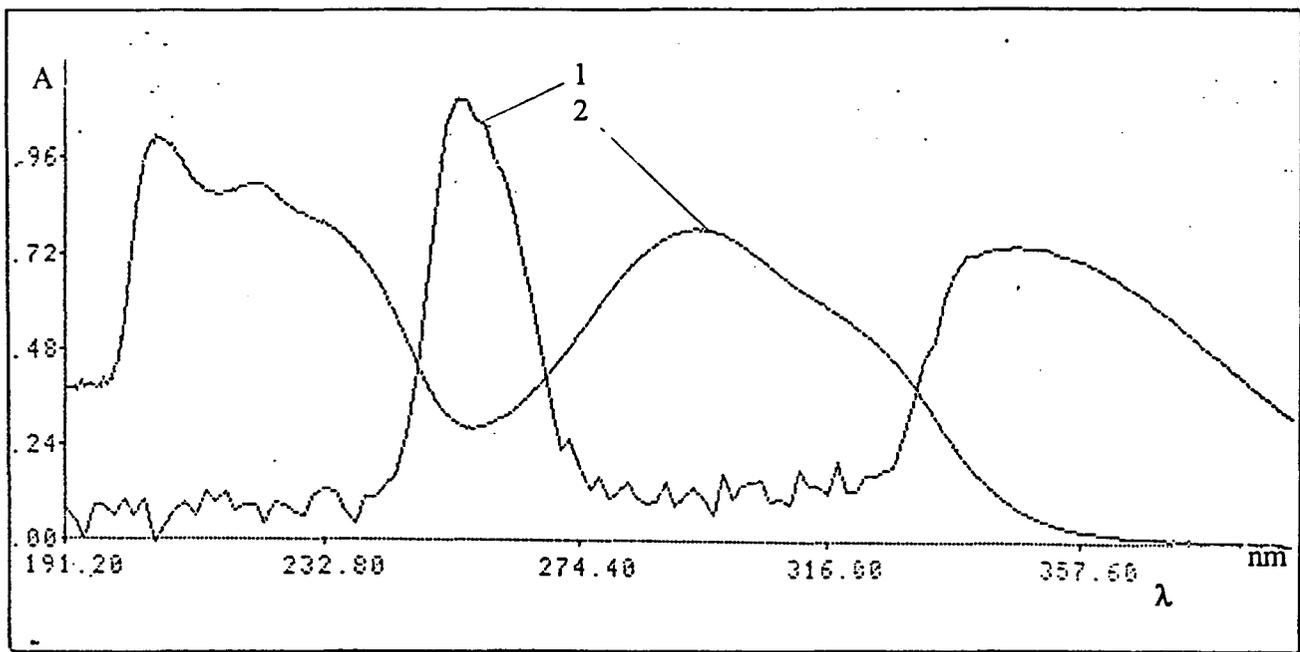


Figure III.29 Spectres UV

1- Fe³⁺ + PDC → PDC (6.10⁻⁴ mole.L⁻¹)

2- PDC (6.10⁻⁵ mole.L⁻¹) → Ethanol à 95%

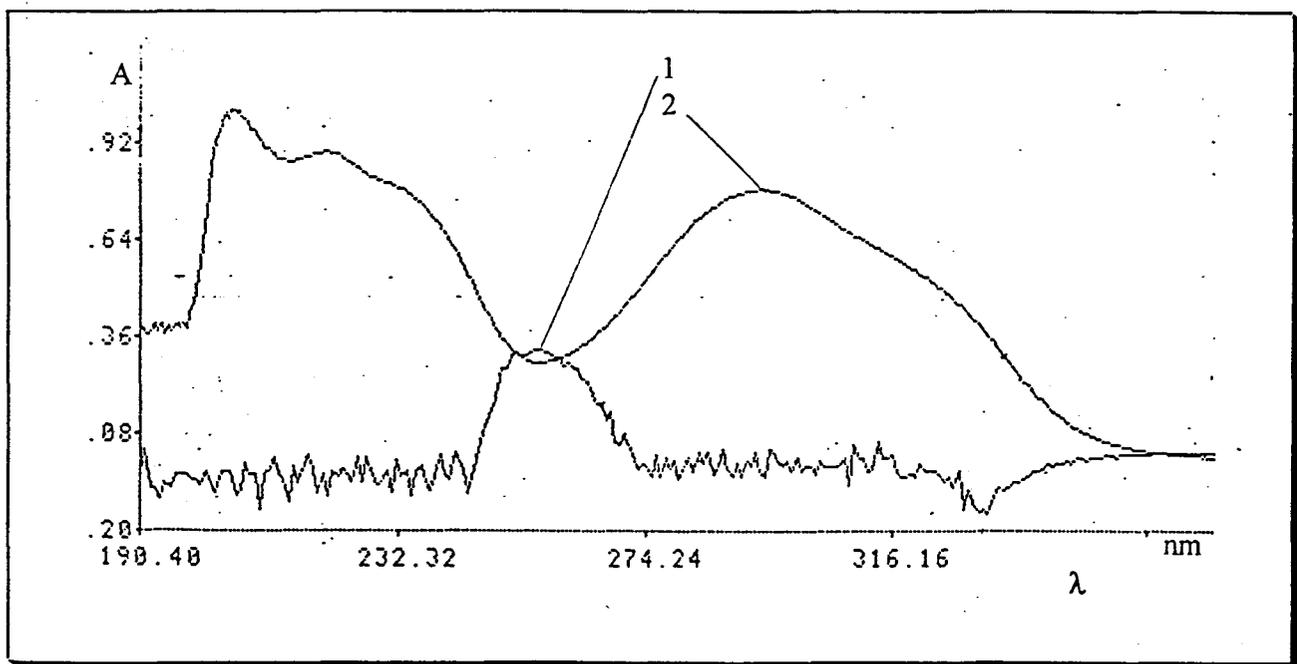


Figure III.30 Spectres UV

1- Cu²⁺ + PDC → PDC (6.10⁻⁴ mole.L⁻¹)

2- PDC (6.10⁻⁵ mole.L⁻¹) → Ethanol à 95%

Pour avoir d'informations sur le comportement de : Ni^{2+} et Cu^{2+} nous avons travaillé avec des solutions diluées d'une manière comparable à celle ayant montré la formation du complexe Fe^{3+} : PDC = 2 : 3.

L'étude réalisée est le suivant:

- 0,02 mL cation métallique 10^{-2} mole L^{-1} + 0,06 mL PDC 10^{-2} mole L^{-1} dans une fiole jaugée de 10 mL complétée au trait avec de l'éthanol à 95% - solution pour la cuve de lecture
- 0,02 mL d'eau distillée + 0,06 mL PDC 10^{-2} mole L^{-1} dans une fiole jaugée de 10 mL complétée au trait avec de l'éthanol à 95% - solution pour le blanc spectrométrique.

Les spectres enregistrés sont présentés dans les Figures III.31 - III.32.

Nous avons enregistré le spectre d'une solution Cu^{2+} et PDC par rapport à l'éthanol. Le spectre est présenté sur la Figure III.31. On voit bien deux bandes importantes vers 220 nm et 300 nm. Pour essayer d'expliquer ce spectre, nous avons enregistré la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour une solution Cu^{2+} et PDC par rapport à une solution de PDC (de la même concentration que celle qui contient Cu^{2+} et PDC). Le spectre est présenté sur la Figure III.31. On constate un maximum d'absorbance vers 200 nm, ainsi que deux maxima vers 220 nm et 300 nm. Il s'agit donc du spectre de cuivre, par rapport à une solution d'éthanol que nous avons enregistré pour comparaison (Figure III.32).

Le spectre d'une solution qui contient Cu^{2+} et PDC enregistré par rapport à une solution témoin qui contient du cuivre en concentration équivalente est en effet le spectre du PDC (Figure III.31).

La même procédure expérimentale a été réalisée pour une solution contenant Ni^{2+} et PDC. Les spectres sont présentés sur les Figures III.33 a) - c).

Dans des solutions diluées ($2 \cdot 10^{-5}$ mole L^{-1} dans cation métallique et $6 \cdot 10^{-5}$ mole L^{-1} dans PDC) il n'y a pas une formation d'un complexe entre les deux espèces.

Les opérations effectuées sur les spectres enregistrés montrent qu'il s'agit bien d'un mélange physique. Le spectre résultant étant la somme des spectres du cation métallique / solvant et celui du PDC / solvant.

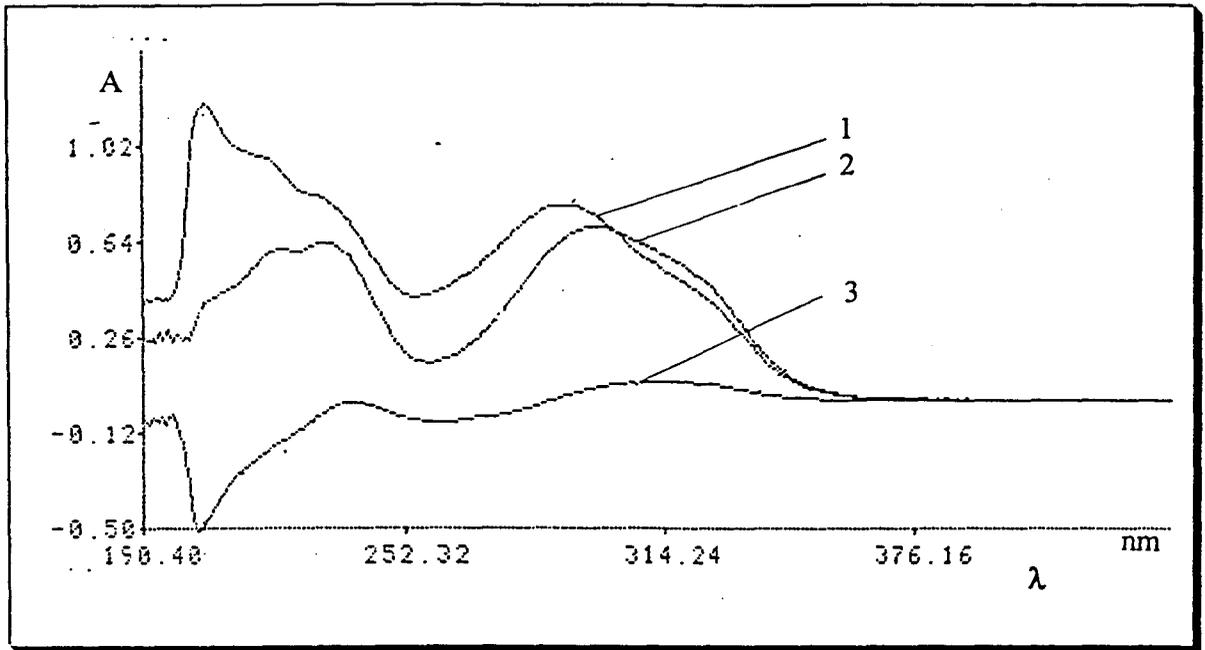


Figure III.31 Spectres dans solutions diluées pour :
 1- PDC → Ethanol
 2- Cu^{2+} + PDC → Ethanol
 3- Cu^{2+} + PDC → PDC

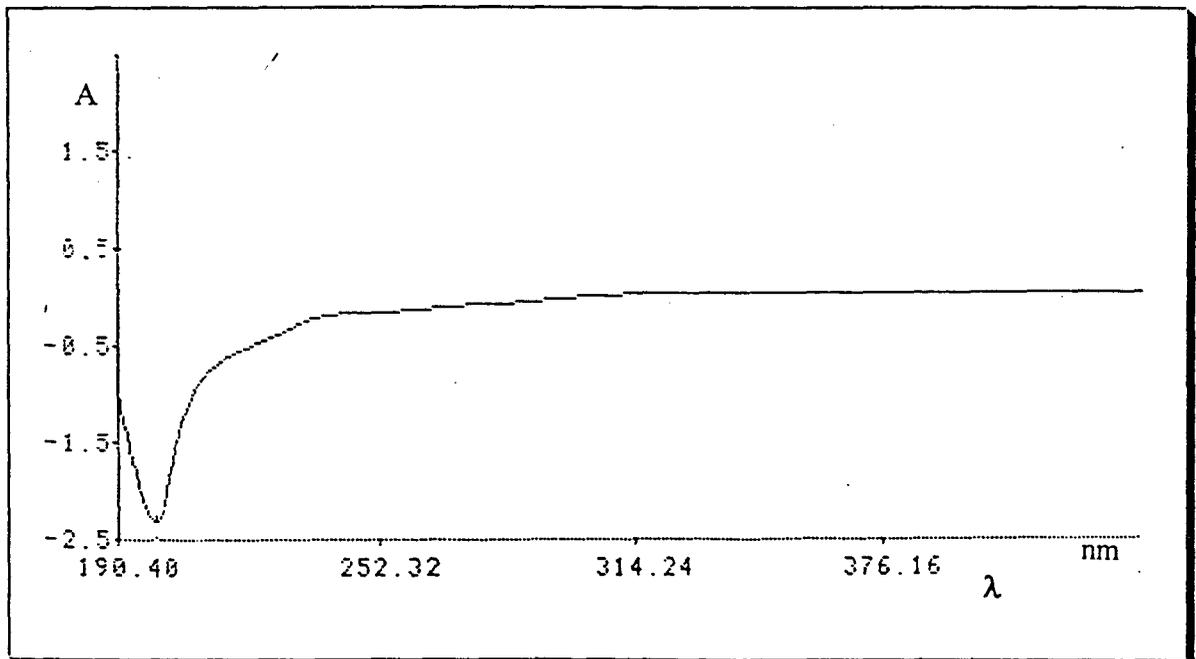


Figure III.32 Spectre du Cu^{2+} → Ethanol

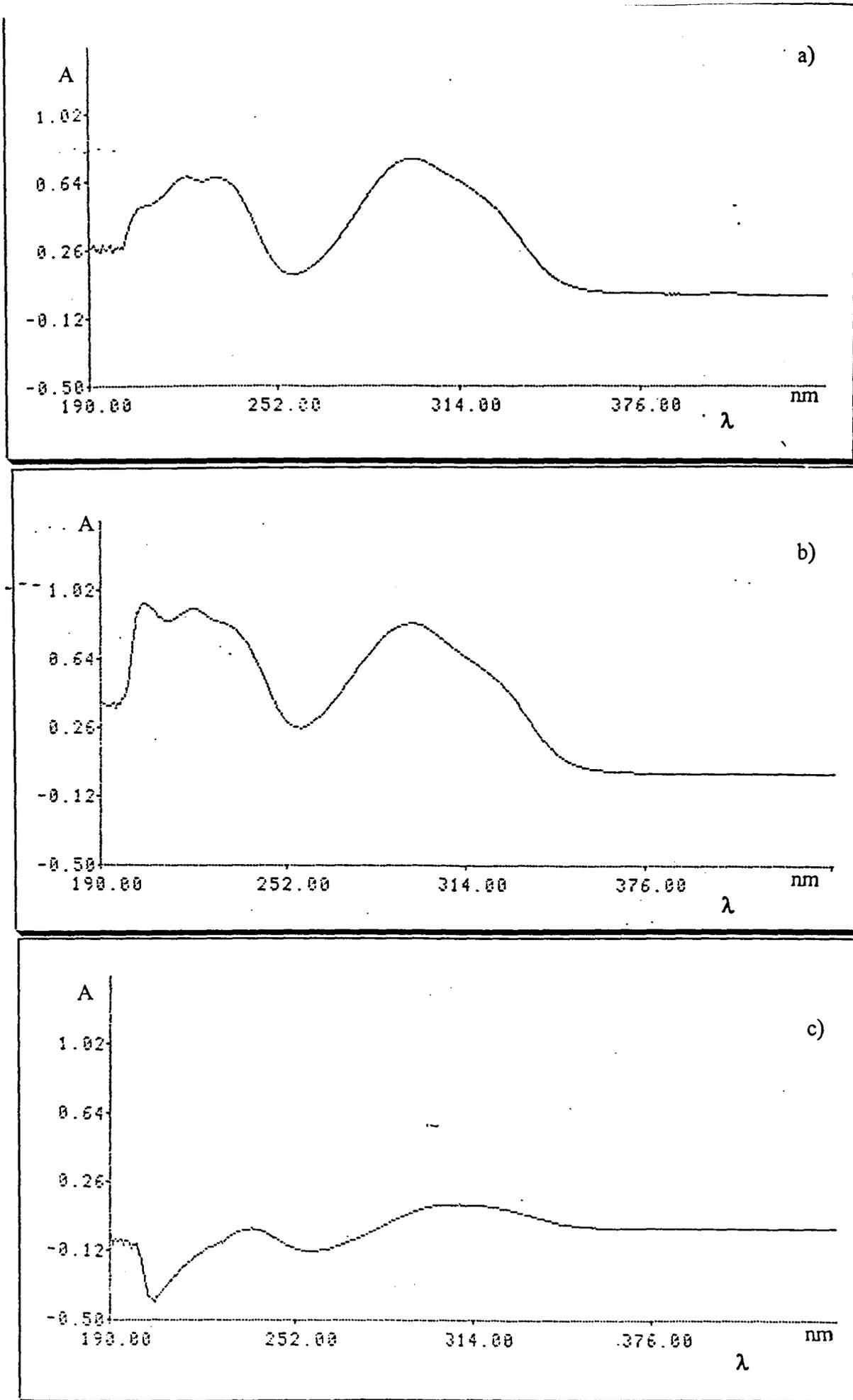


Figure III.33 Spectres dans solutions diluée pour

a) $\text{Ni}^{2+} + \text{PDC} \rightarrow \text{Ethanol}$

b) $\text{Ni}^{2+} + \text{PDC} \rightarrow \text{Ni}^{2+}$

c) $\text{Ni}^{2+} + \text{PDC} \rightarrow \text{PDC}$

CONCLUSION

Il y a une interaction entre le PDC et le Cu^{2+} dans solution d'une certaine concentration. La bande caractéristique est située à 256 nm et n'apparaît qu'à des concentrations de $2 \cdot 10^{-4}$ mole L^{-1} en Cu^{2+} et $6 \cdot 10^{-4}$ mole L^{-1} en PDC. Cette concentration est 10 fois plus grande que celle à laquelle le Fe^{3+} forme un complexe avec le PDC.

Dans solutions plus diluées ($2 \cdot 10^{-5}$ mole L^{-1} en Cu^{2+} et $6 \cdot 10^{-5}$ mole L^{-1} en PDC) on n'observe pas la formation d'un complexe.

Une étude plus approfondie du comportement du PDC vis-à-vis du Cu^{2+} ne faisant pas partie d'objet de ce travail restera à l'état de projet.

- Les autres cations ne forment pas des complexes avec le PDC.

On peut donc conclure que le PDC se montre un réactif sélectif et sensible pour le Fe^{3+} .

ETUDE R.P.E.

Les études RPE concernant les ions métalliques de transition peuvent conduire à des informations sur les propriétés magnétiques de leurs électrons célibataires. En conséquence on peut espérer obtenir des renseignements sur la nature de la liaison entre l'ion métallique de transition avec d'éventuels ligands. Les études ont été menées sur deux ions métalliques d'intérêt biologique : Cu^{2+} et Fe^{3+} .

Complexes cuivriques

L'ion Cu^{2+} a 9 électrons d qui appariés au maximum lui confèrent un spin total $S=1/2$. On admet habituellement que les ligands entourant l'ion Cu^{2+} sont disposés selon un arrangement octaédrique distordu avec quatre ligands dans un plan incluant l'ion Cu^{2+} et deux autres ligands en position axiale perpendiculaires à ce plan. Ces ligands axiaux sont généralement peu liés à l'ion cuivrique et joueront un rôle mineur dans les propriétés magnétiques et optiques des complexes cuivriques. Si l'on néglige les ligands axiaux on se trouvera donc dans un environnement plan carré si Cu^{2+} est localisé dans le plan des quatre ligands axiaux ou pyramidal si Cu^{2+} est en dehors du plan des ligands. Ce genre d'environnement conduit à des spectres RPE de "type axial" avec une absorption importante à champ élevé caractérisée par une valeur g_{\perp} et une absorption plus faible à champ faible caractérisée par une valeur g_{\parallel} .

Les isotopes 63 et 65 du Cuivre ont un spin nucléaire $I=3/2$. On obtiendra donc une structure hyperfine à 4 raies, caractérisée par une constante de couplage A_{\perp} à champ élevé et une constante de couplage A_{\parallel} à champ faible. La constante hyperfine A_{\perp} est généralement très petite ce qui rend difficile sa détermination expérimentale.

En résumé, la détermination de g_{\parallel} et A_{\parallel} sera facile à effectuer. La valeur de g_{\perp} sera mesurée plus ou moins facilement (difficilement dans le cas d'un mélange de spectres). Ces différentes valeurs seront dépendantes de la nature des ligands et de leur disposition autour de l'ion cuivrique. Dans le cas où tous les ligands sont liés à l'ion cuivrique par des atomes d'oxygène Peisach et Blumberg² ont montré que la valeur de g_{\parallel} diminuait avec la charge globale de l'ion complexe et qu'au contraire la constante de couplage A_{\parallel} augmentait dans les mêmes conditions (Figure III.34). Pour une même charge globale (cas du ligand oxalate et du

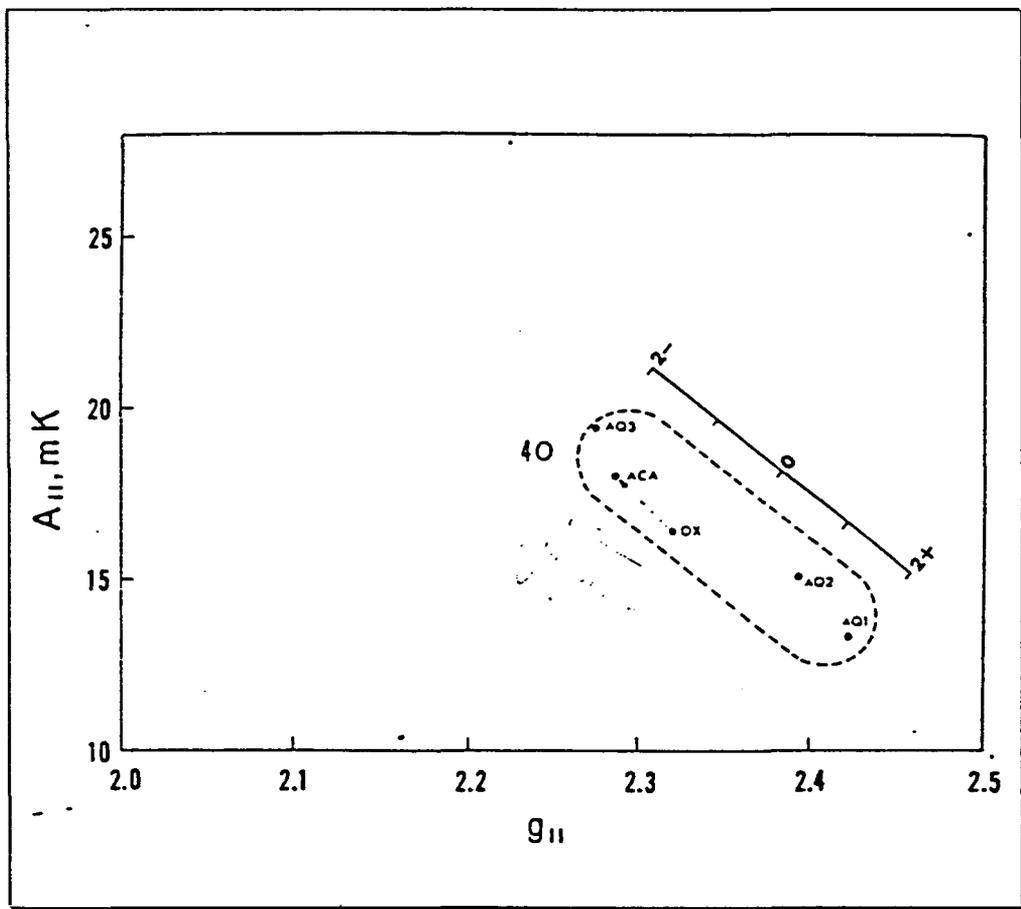


Figure III.34

- AQ1 hexaquo ion à pH 1
- AQ2 hexaquo ion à pH 3
- AQ3 hexaquo ion à pH 14
- OX bis oxalate
- ACA bis acétylacétonate

ligand acétylacétonate) on observe un déplacement des paramètres liés à la conjugaison dans le ligand se traduisant par une augmentation de A_{II} et une diminution de g_{II} .

Résultats

Une solution cuivrique 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 86,4%) à pH 5 donne un spectre RPE caractéristique du complexe^{3,4} $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ (Figure III.35). Pour une solution qui contient 2 mL de Cu^{2+} 10^{-3} mole.L⁻¹ (solution aqueuse) et 6 mL solution éthanolique de PDC de concentration 10^{-3} mole.L⁻¹ étendue à un volume total de 10 mL par l'éthanol, on obtient un second complexe (Figure III.36) dont les caractéristiques A_{II} et g_{II} sont comparables à celles obtenues pour le complexe $\text{Cu}^{2+}[\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_2\text{COO}^-]_2\text{H}_2\text{O}^4$ (Tableau III.14).

Tableau III.17

COMPLEXE	g_{II}	A_{II} gauss	g_{\perp}
$[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$	2,432	117,5	2,094
ref. 4 ^a	2,412	119,7	2,099
$\text{Cu}(\text{PDC})_2$	2,358	152,5	2,080
ref. 4 ^b	2,333	150,5	2,080

ref. 4^a - $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$

ref. 4^b - Diaquabis (2,6 -dihydroxybenzoate) de cuivre (II)

On peut donc raisonnablement considérer que les ligands PDC sont liés au cuivre par la fonction carboxylate, deux molécules d'eau (ou d'éthanol) participant au complexe plan-carré (Figure III.37).

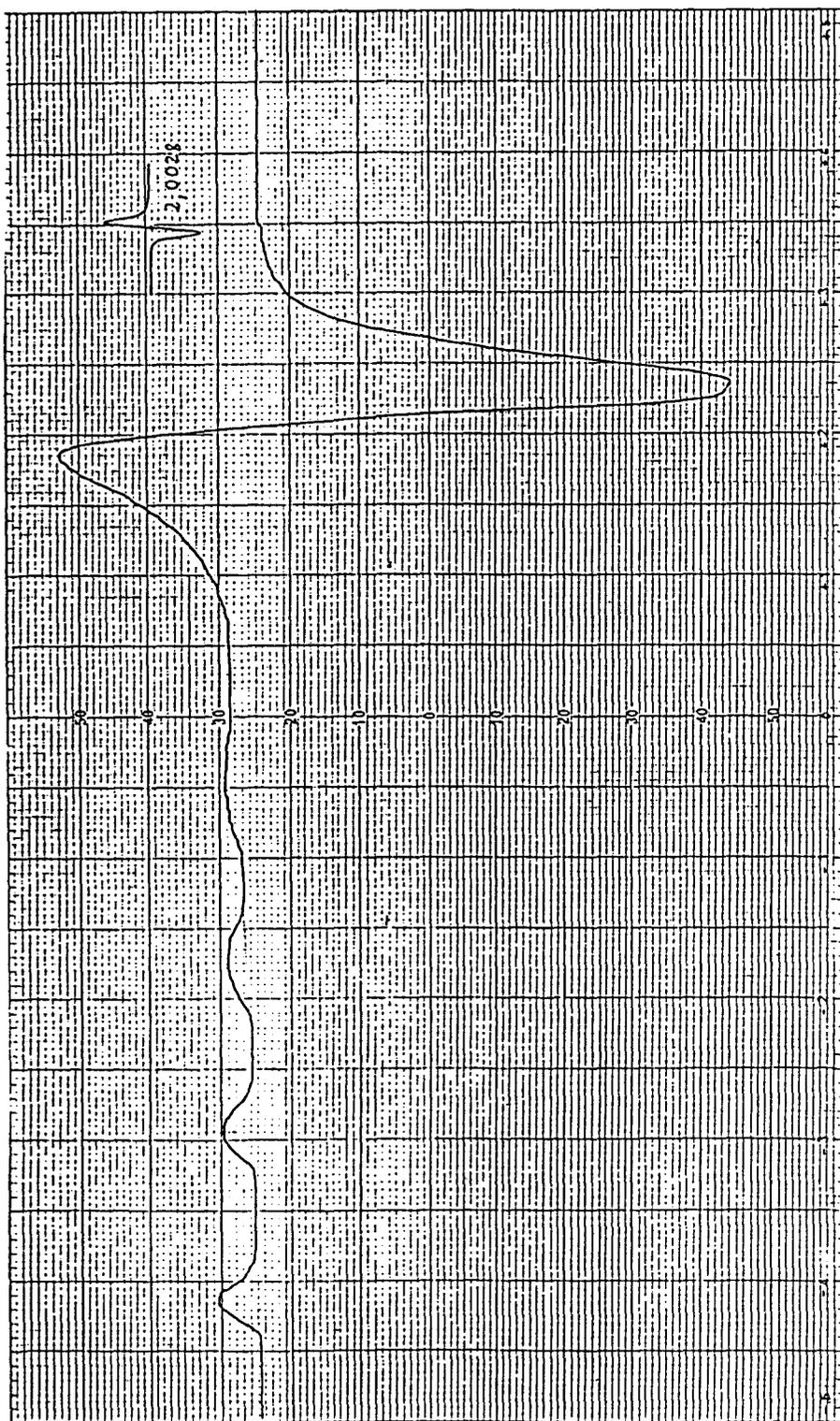


Figure III.35
Solution $\text{Cu}^{2+} 10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ (pH ~ 5)

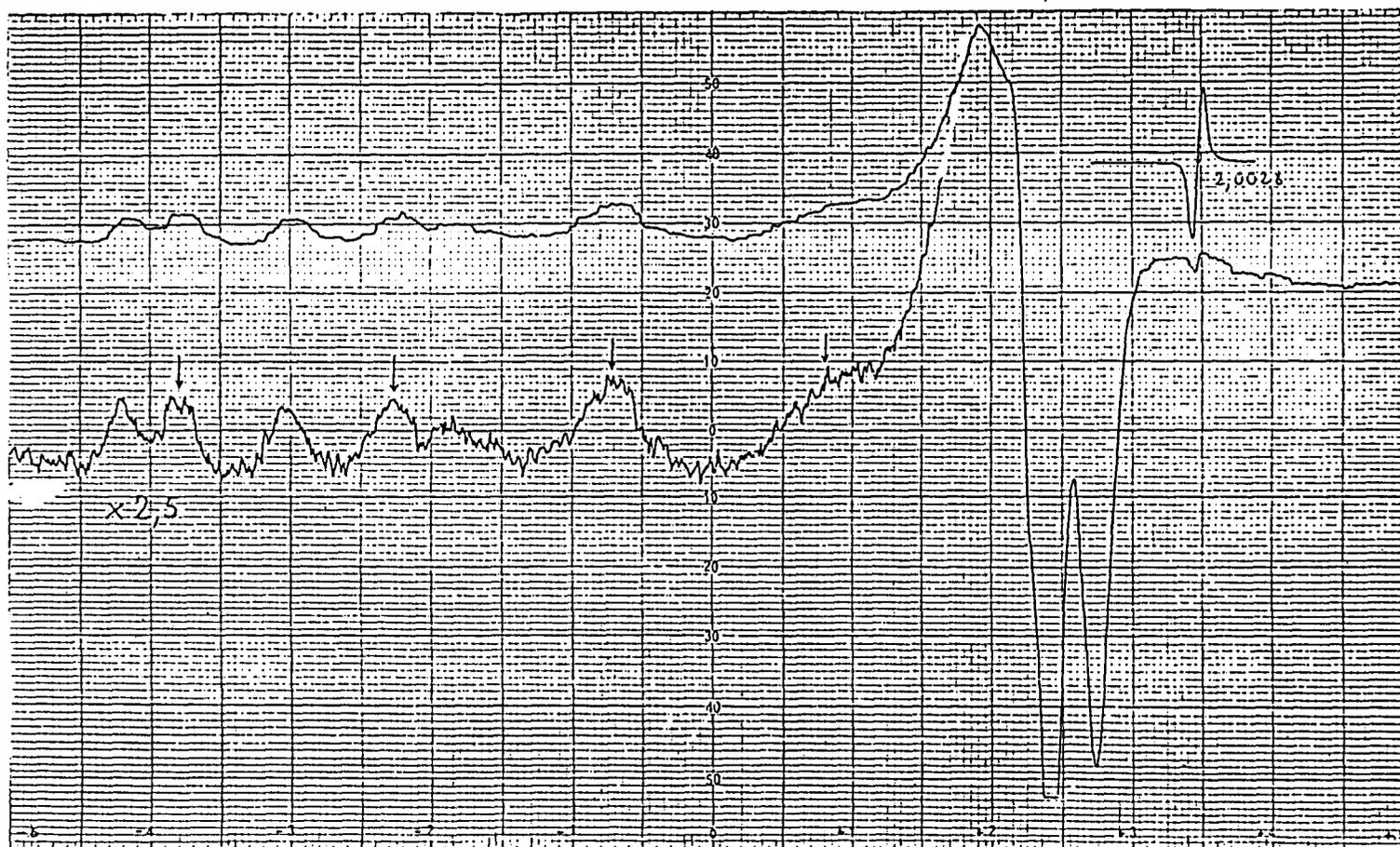


Figure III.36

Solution $\text{Cu}^{2+} 10^{-3} \text{ mole.L}^{-1} + \text{PDC } 3 \cdot 10^{-3} \text{ mole.L}^{-1}$ (pH ~ 5)

Les 4 flèches localisent la partie parallèle du spectre du complexe

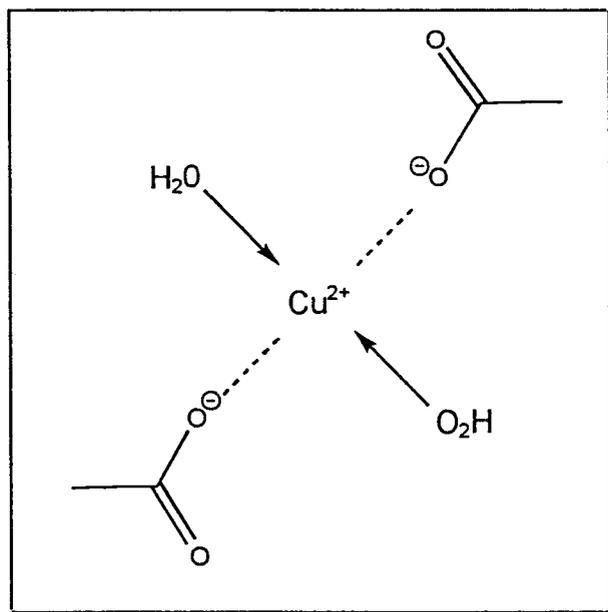


Figure III.47

Complexes ferriques

La spectroscopie RPE des complexes ferriques est beaucoup plus difficile à interpréter que celle du cuivre. Le Tableau III.15 rassemble les principales valeurs caractéristiques de g aussi que les températures minimales d'observation pour différents complexes biologiques du Fe(III)^5 .

Tableau III.15

Metal ion	3d config.	S	l	Examples	g	T (K)
Fe (III)	d^5	$\frac{1}{2}$	0	Low spin heme (cytochrome c)	3.8-0.5	< 100
Fe (III)	d^5	$\frac{5}{2}$	0	High-spin heme P-450 _{cam} + camphor)	8-1.8	< 100
Fe (III)	d^5	$\frac{1}{2}$	0	Non-heme iron (lipoxygenase)	10-0.5	< 100
Fe (III)-Fe (II)	d^5, d^6	$\frac{1}{2}$	0	Reduced spinach ferredoxin	1.7-2.1	< 50
3Fe (III) triad	$(d^5)_3$	$\frac{1}{2}$	0	Aconitase	2-2.1	< 50
3Fe (III), Fe (II) tetrad	$(d^5)_3 d^6$	$\frac{1}{2}$	0	Oxidized HiPIP	2-2.2	< 50
Fe (III), 3Fe (II) tetrad	$(d^5)_3 d^6$	$\frac{1}{2}$	0	Reduced bacterial ferredoxin	1.7-2.1	< 50

Si on se limite tout d'abord aux complexes mononucléaires ils peuvent être à bas spin ($S=1/2$) ou à haut spin ($S=5/2$). Dans le premier cas (complexe à bas spin) ceux-ci sont généralement caractérisés par trois valeurs de g (voisines de 2) représentatives d'un complexe à 6 ligands à symétrie orthorhombique. On peut citer l'exemple de la Bleomycine⁶ ainsi que les hémoprotéines⁷.

Pour les complexes à haut spin et dans le cas d'une symétrie cubique parfaite on obtient théoriquement cinq transitions autour de $g = 2$ avec des intensités relatives 5, 8, 9, 8, 5, le facteur g étant isotrope⁸.

Dans la plupart des cas les complexes ferriques n'ont pas la symétrie cubique. Les spectres étant réalisés en bande X (9 à 10 GHz) l'énergie $h\nu$ est dans la plupart des cas inférieure aux paramètres en champ nul (D et E) entre les trois doublets de Kramer. Dans ce cas les transitions ne peuvent intervenir qu'à l'intérieur des doublets et non entre eux. Deux cas sont alors à distinguer:

- les complexes ont une structure tétragonale avec $E = 0$. On observe essentiellement dans ce cas une résonance vers $g = 2$ et vers $g = 6$; c'est le cas des protéines hémiques à haut spin;
- les complexes ont une structure orthorhombique avec $E/D = 1/3$. Dans ce cas on obtient une résonance très forte vers $g = 4,3$ et une raie beaucoup plus faible vers $g = 9$ à 10 . Ce dernier cas correspond essentiellement aux protéines non-hémiques ainsi qu'à divers complexes tels que la Bléomycine⁶, la Parabactine⁹, l'acide isomuginéique¹⁰.

Enfin il convient de rappeler que dans les systèmes contenant plusieurs électrons non appariés la dégénérescence des états de spin peut être levée même en absence de champ magnétique. Si la séparation énergétique des états obtenus est supérieure à l'énergie du quantum microonde $h\nu$ il peut être impossible d'observer le spectre RPE. Dans d'autre cas seules quelques unes des transitions permises seront observables.

L'observation par RPE des complexes bi ou poly nucléaires dépendra de l'interaction d'échange entre les noyaux magnétiques. Selon l'importance de l'interaction on favorisera le ferromagnétisme (détectable par RPE) ou l'antiferromagnétisme conduisant à l'absence de résonance paramagnétique électronique. L'antiferromagnétisme sera proportionnel au carré de l'intégrale de recouvrement des orbitales magnétiques (contenant les électrons célibataires) et dépendra donc fortement de la disposition dans l'espace des atomes ou ions à électrons non-

appariés. Un fort recouvrement des orbitales magnétiques conduira donc à l'absence de signal RPE¹¹.

Résultats

Pour une solution qui contient 0,2 mL de Fe^{3+} de concentration 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans HCl 0,024 mole.L⁻¹) et 8 mL de solution de PDC 10^{-3} M (dans l'éthanol à 95%), préparée en fiole jaugée de 10 mL (portée au trait avec de l'éthanol) on n'obtient pas de signaux RPE.

Ceci pourrait-être expliqué par la formation d'un complexe polynucléaire entre le PDC et le Fe^{3+} . La formation de ce complexe nécessiterait le recouvrement des orbitales magnétiques se traduisant par l'apparition de l'antiferromagnétisme, expliquent ainsi l'absence de résonance paramagnétique électronique.

Partie expérimentale

Les expériences RPE ont été réalisées sur un appareil VARIAN E109 équipé d'une cavité double TE 102. Les spectres ont été obtenus à 77° K sous une puissance microonde de 10 mW avec une modulation 100 kHz d'amplitude 10 gauss. Les valeurs de g ont été déterminées a référence au "Strong Pitch" VARIAN (g = 2,0028)

ETUDE DE L'INTERACTION DU Fe(III) AVEC D'AUTRES PRODUITS SYNTHETISES

Nous avons réalisé également une étude qui nous permettra de caractériser le comportement du Fe^{3+} vis-à-vis des autres composés synthétisés.

Des solutions mère de concentration 10^{-2} mole.L⁻¹ en produit à tester (dans éthanol à 95%) et une solution mère de Fe^{3+} 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans HCl $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole.L⁻¹) ont été utilisées.

- Préparation des solutions

Pour des solutions qu'on va appeler "solutions concentrées" ("s.c.") la solution pour la cuve de lecture a été préparée comme suit:

- 0,2 mL de solution de Fe^{3+} 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans HCl $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole.L⁻¹) et 0,6 mL de produit à tester de concentration 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%) sont mis dans une fiole jaugée de 10 mL qu'on met au trait avec de l'éthanol à 95%.

La solution témoin contient à la place de 0,2 mL de solution Fe^{3+} 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans HCl $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole.L⁻¹), un volume équivalent de solution d'acide chlorhydrique $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole.L⁻¹; 0,6 mL de solution produit à tester de concentration 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%) dans une fiole jaugée de 10 mL complétée au trait avec de l'éthanol à 95%.

Pour des solutions qu'on va appeler "*diluées*" ("c.d.") nous avons préparé les fioles jaugées de 10 mL comme suit:

La solution pour la cuve de lecture contient 0,06 mL de solution mère de produit à tester de concentration 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%) et 0,02 mL de solution de Fe^{3+} 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans HCl $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole.L⁻¹) dans 10 mL d'éthanol à 95%.

La solution témoin contient à la place de 0,2 mL solution de Fe^{3+} 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans HCl $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole.L⁻¹), un volume équivalent de solution d'acide chlorhydrique $5,9 \cdot 10^{-2}$ mole.L⁻¹; 0,6 mL de solution mère de produit à tester de concentration 10^{-2} mole.L⁻¹ (dans l'éthanol à 95%) dans un volume de 10 mL d'éthanol à 95%.

Les spectres ont été enregistrés sur un appareil PERKIN-ELMER LAMBDA 15 UV/VIS.

Les spectres obtenus utilisant des solutions de Fe^{3+} et d'Ald I et respectivement d'Ald II sont représentés dans les Figures III.38 - III.41.

Les caractéristiques des spectres sont répertoriées dans les Tableaux III.16 et III.17.

Nous avons constaté que le Fe^{3+} peut former des complexes avec les deux aldéhydes prénylés seulement dans "solutions concentrées"; Les spectres obtenus sont analogues à celui du complexe formé par le Fe^{3+} avec le PDC dans "solutions diluées" (Figure III.42).

Pour les aldéhydes intégrant le motif chromène les spectres enregistrés sont présentés dans les Figures III.43 et III.44.

Les spectres obtenus dans des "solutions concentrées" contenant Fe^{3+} et AldCS, respectivement AldCD présentent le maximum d'absorption à λ environ 344 nm, mais l'allure générale des spectres est différentes de celui du complexe Fe^{3+} - PDC.

Aucun changement ne s'observe pas dans les spectres de deux aldéhydes en présence du Fe^{3+} quand on utilise des solutions diluées (Tableau III.18).

Les conclusions ci-dessus sont aussi valables pour les interactions entre Fe^{3+} et ACS, respectivement ACD (Tableau III.19 et III.20), pour le dernier l'effet de la présence du Fe^{3+} étant moins marqué (Figure III.45).

L'action complexante du DMC est mise en évidence par les spectres présentés dans la Figure III.46 et le Tableau 21. L'allure différente de ce spectre par rapport à celle obtenue pour le complexe Fe^{3+} -PDC est due aux interactions différentes entre le Fe^{3+} et les deux acides : DMC, respectivement PDC..

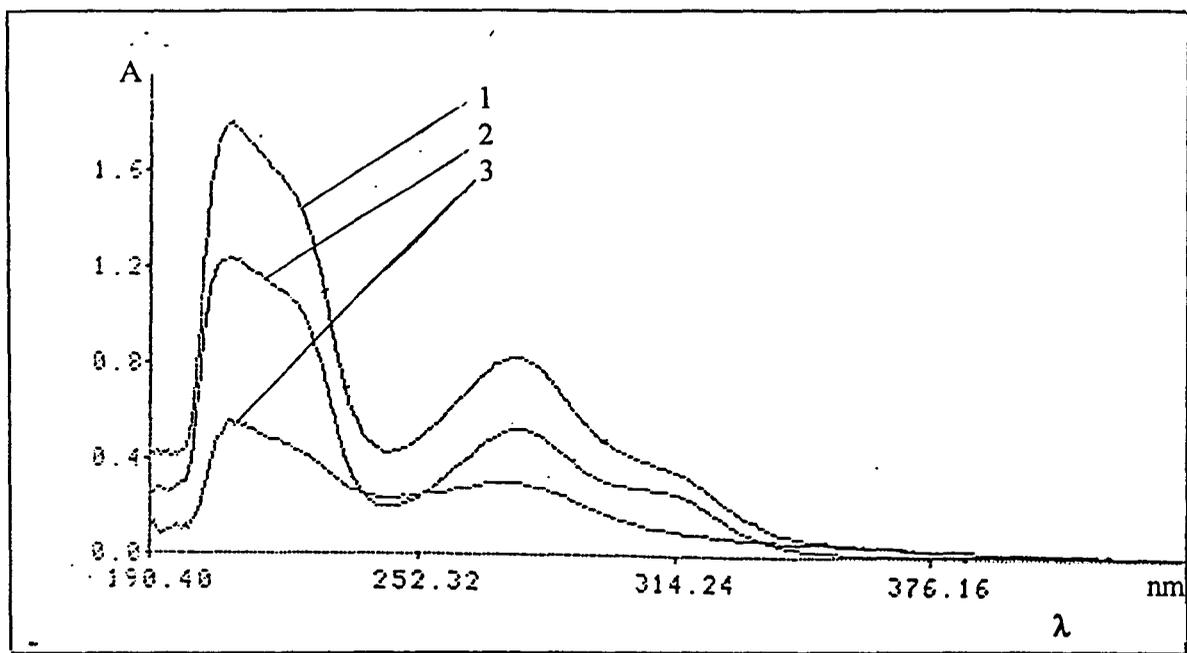


Figure III.38 Spectres dans solutions "diluées" pour le système Fe^{3+} - Ald I
 1- Ald I \rightarrow Ethanol
 2- Fe^{3+} + Ald I \rightarrow Ethanol
 3- Fe^{3+} + Ald I \rightarrow Ald I

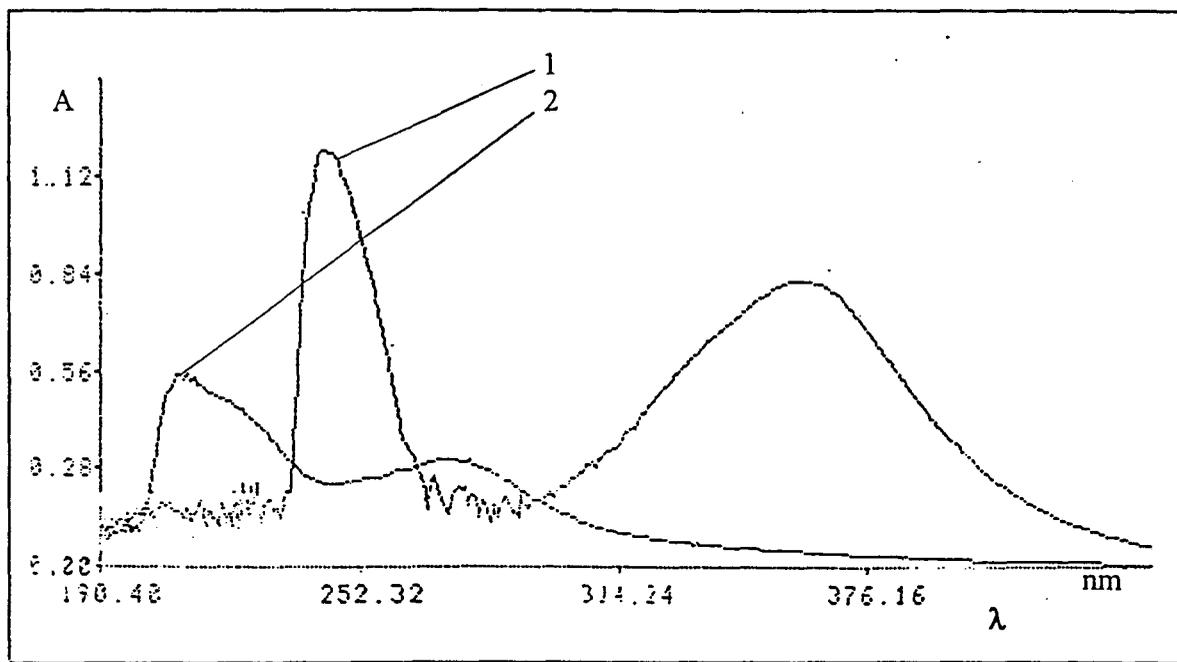


Figure III.39 Spectres UV : Fe^{3+} + Ald I \rightarrow Ald I
 1- solutions "concentrées";
 2- solutions "diluées"

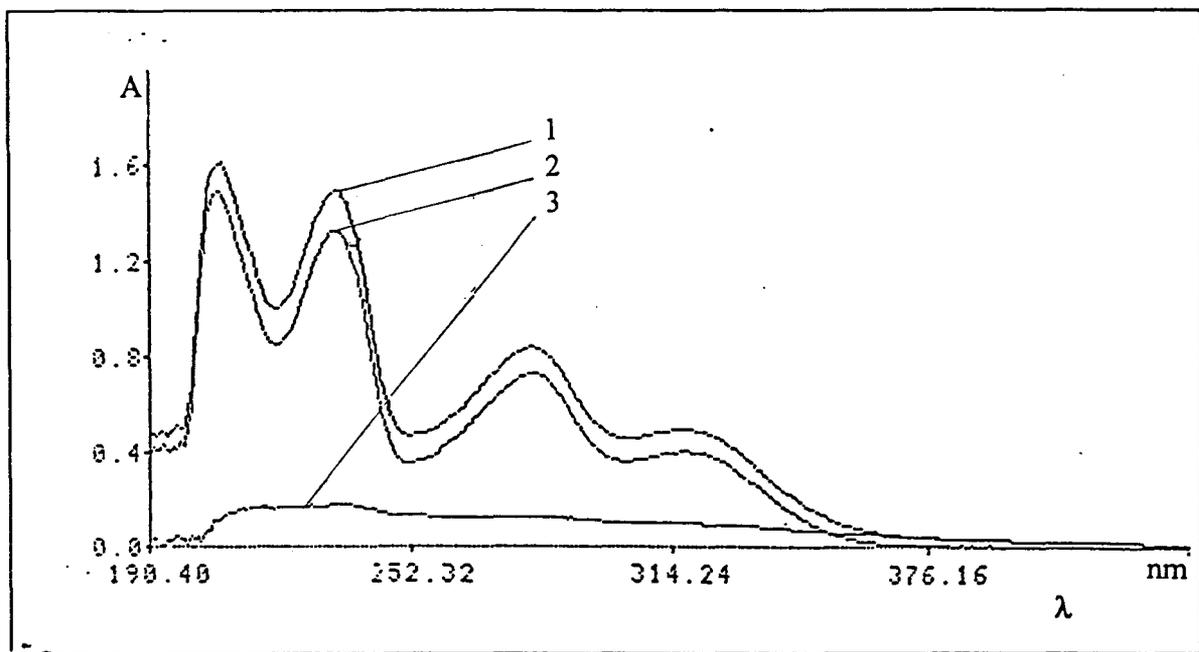


Figure III.40 Spectres dans solutions "diluées" pour le système Fe^{3+} - Ald II

- 1- Ald II \rightarrow Ethanol
- 2- Fe^{3+} + Ald II \rightarrow Ethanol
- 3- Fe^{3+} + Ald II \rightarrow Ald II

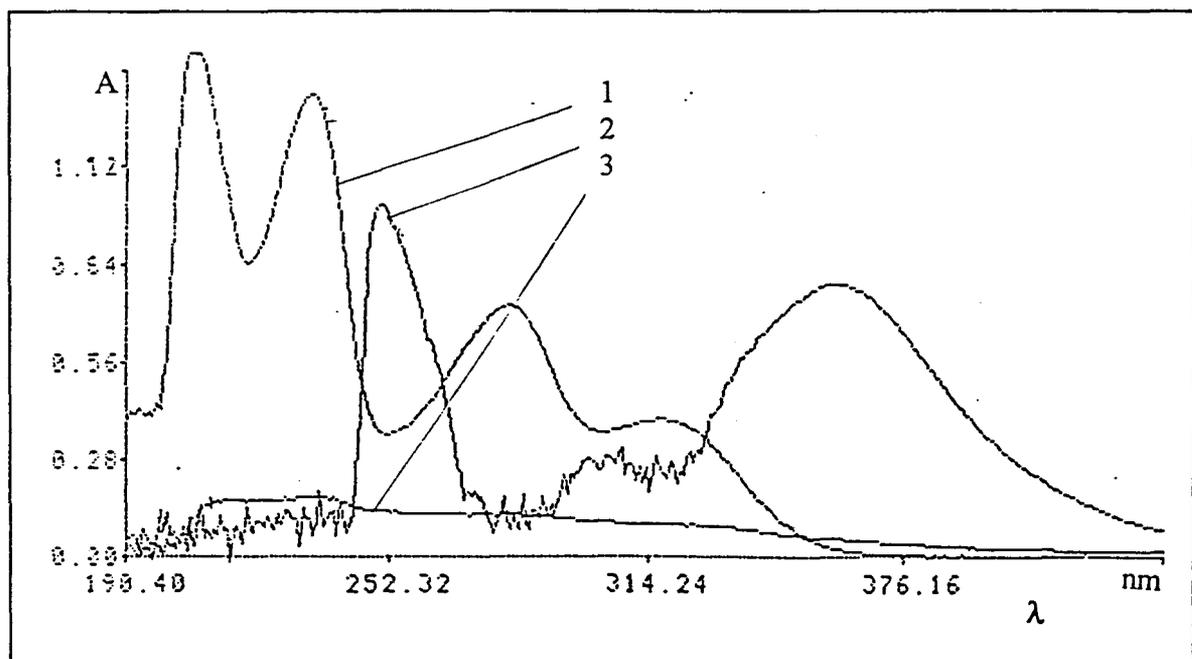


Figure III.41 Comparaison de spectres :

- 1- Ald II \rightarrow Ethanol
- 2- Fe^{3+} + Ald II \rightarrow Ald II ("s.d")
- 3- Fe^{3+} + Ald II \rightarrow Ald II ("s.c")

	λ_{\max} (nm)	A	λ_{\max} (nm)	A	λ_{\max} (nm)	A	λ_{\max} (nm)	A	λ_{\min} (nm)	SPECTRE No.	FIG. No.
ALD I/ éthanol	208,8	1,232	220,8	1,093	274,4	0,518	311,2	0,260	245,6	1	III.38
Fe ³⁺ +ALD I/ éthanol; ("s.d.")	210,4	0,548	220,8	0,465	272,0	0,299	diminue		244,8	2	III.38
Fe ³⁺ +ALD I/ ALD I; ("s. d.")	208,8	1,791	220,8	1,557	274,4	0,358	311,2	0,358		3 2	III.38 III.39
Fe ³⁺ +ALD I/ ALD I; ("s.c.")	$\lambda_{\max} 243,2 \text{ nm } A=1,186$ $\lambda_{\max}=360,0 \text{ nm } A=0,814$									1	III.39

Tableau III.16

	λ_{\max} (nm)	A	λ_{\max} (nm)	A	λ_{\max} (nm)	A	λ_{\max} (nm)	A	λ_{\min} (nm)	SPECTRE No.	FIG. No.
ALD II/ éthanol	208,0	1,489	234,2	1.323	274,4	0.518	317,1	0.392	245,6	2	III.40 III.41
Fe ³⁺ +ALD II/ éthanol; ("s.d.")	207,2	1,602	233,6	1,488	280,0	0.824	316,8	0,481	251,2	1	III.40
Fe ³⁺ +ALD II/ ALD II; ("s. d.")	on obtient le spectre du Fe ³⁺									3	III.40 III.41
Fe ³⁺ +ALD II/ ALD II; ("s.c.")	$\lambda_{\max} 249,6 \text{ nm } A=1,001$ $\lambda_{\max}=359,2 \text{ nm } A=0,775$									2	III.41

Tableau III.17

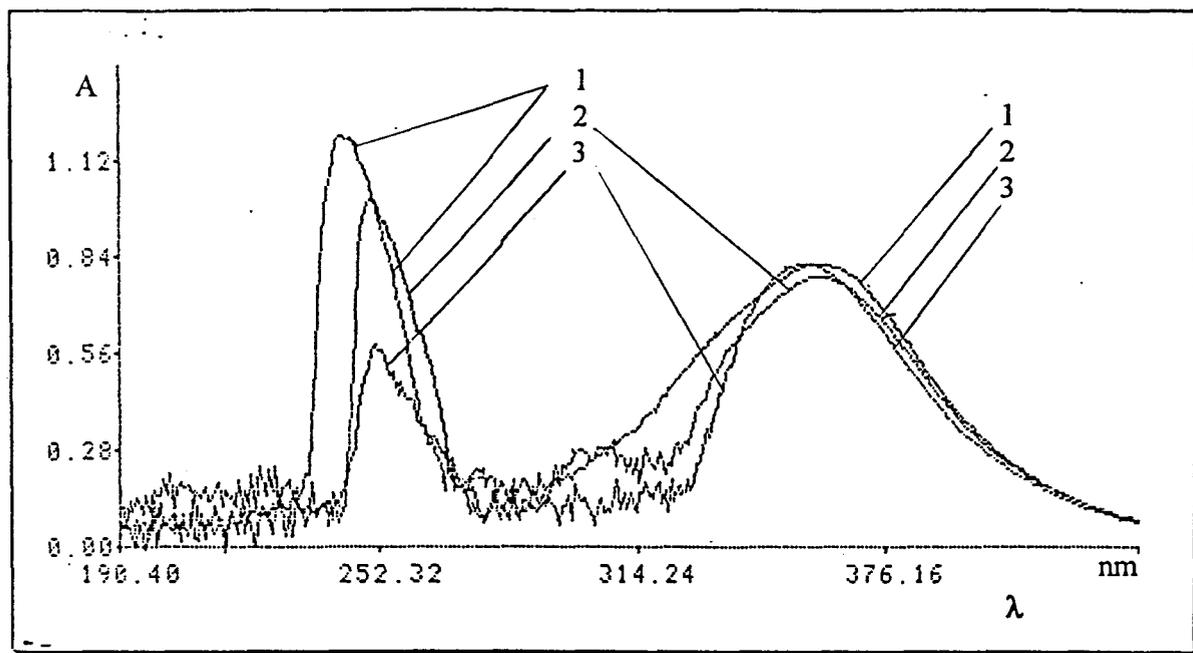


Figure III.42 Comparaison de spectres

- 1- $\text{Fe}^{3+} + \text{Ald I} \rightarrow \text{Ald I}$ ("s.c")
- 2- $\text{Fe}^{3+} + \text{Ald II} \rightarrow \text{Ald II}$ ("s.c")
- 3- $\text{Fe}^{3+} + \text{PDC} \rightarrow \text{PDC}$ ("s.d.")

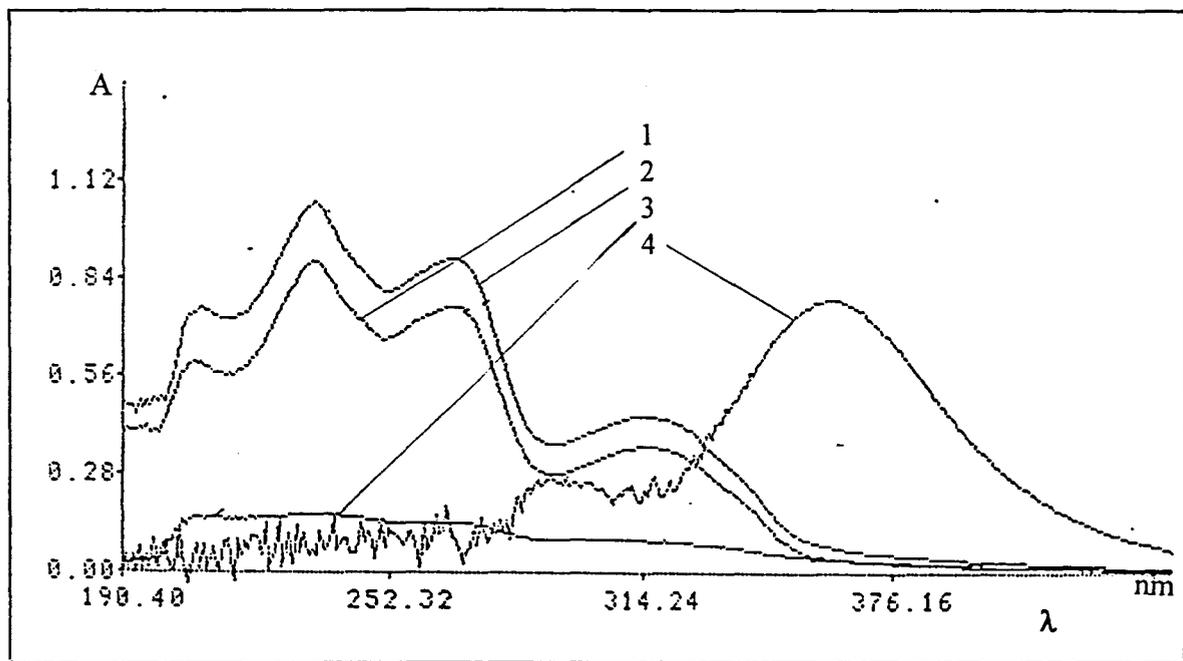


Figure III.43 Spectres UV :

- 1- AldCS \rightarrow Ethanol ("s.d.")
- 2- $\text{Fe}^{3+} + \text{AldCS} \rightarrow \text{Ethanol}$ ("s.d.")
- 3- $\text{Fe}^{3+} + \text{AldCS} \rightarrow \text{AldCS}$ ("s.d.")
- 4- $\text{Fe}^{3+} + \text{AldCS} \rightarrow \text{AldCS}$ ("s.c.")

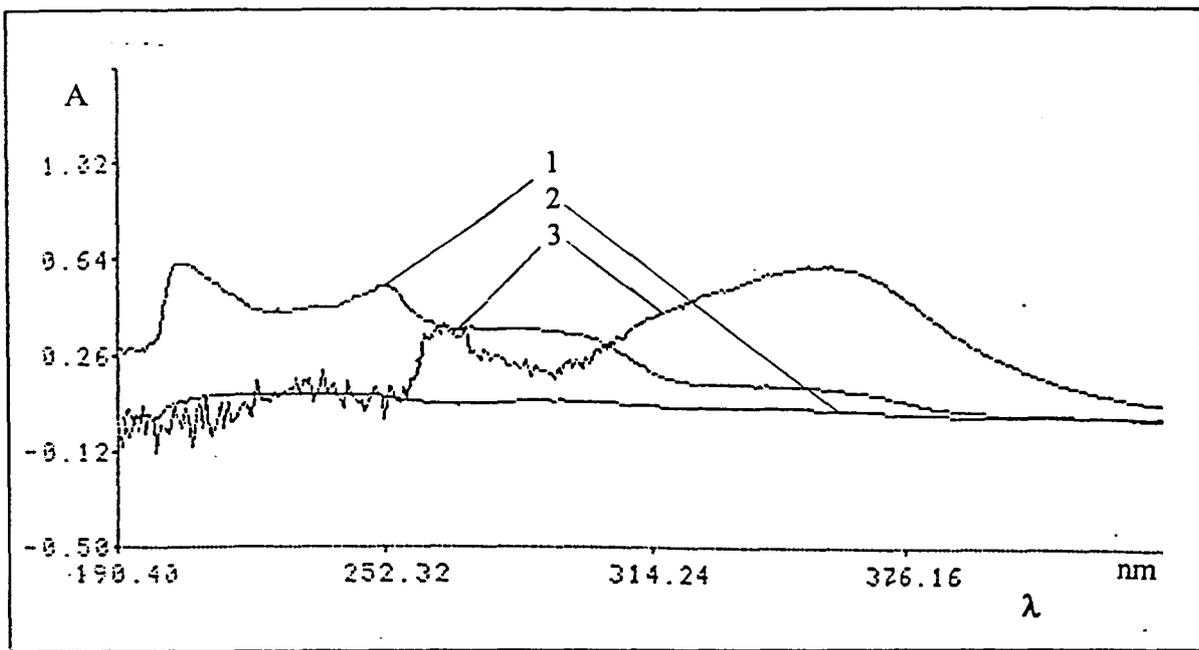


Figure III.44 Spectres UV :

- 1- AldCD → Ethanol ("s.d.")
- 2- Fe³⁺ + AldCD → AldCD ("s.d.")
- 3- Fe³⁺ + AldCD → AldCD ("s.c.")

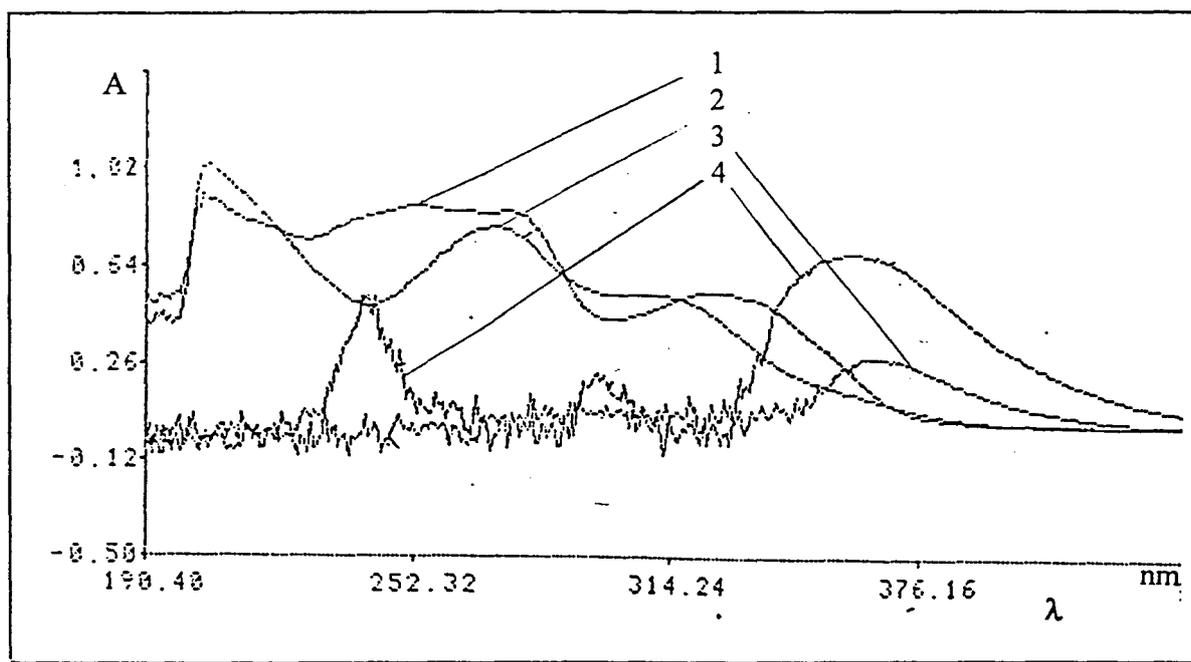


Figure III.45 Spectres UV :

- 1- ACD → Ethanol ("s.d.")
- 2- ACS → Ethanol ("s.d.")
- 3- Fe³⁺ + ACD → ACD ("s.c.")
- 4- Fe³⁺ + ACS → ACS ("s.c.")

	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\min} (nm)
AldCS/ éthanol	206,4	0,591	234,4	0,885	265,6	0,754	313,3	0,353	215,2 251,2 291,2
Fe ³⁺ +AldCS/ éthanol; ("s. d.")	206,4	0,732	234,4	1,051	265,6	0,890	313,6	0,438	
Fe ³⁺ +AldCS/ AldCS; ("s. d.")	on obtient le spectre du Fe ³⁺								
Fe ³⁺ +AldCS/ AldCS; ("s. c.")	$\lambda_{\max}=318,4\text{nm}$ $A=0,213$ $\lambda_{\max}=360,0\text{nm}$ $A=0,774$								280,8

Tableau III.18

	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\min} (nm)	A_{\min}	λ_{\min} (nm)	A_{\min}
ACS / éthanol	204,8	0,989	271,2	0,825	310,4	0,593	240,8	0,464	296,81	0,568
Fe ³⁺ +ACS/ éthanol; ("s.d.")	205,6	1,127	271,2	0,932	310,4	0,685	240,0	0,592	299,2	0,661
Fe ³⁺ +ACS/ ACS; ("s.d.")	on obtient le spectre du Fe ³⁺									
Fe ³⁺ +ACS/ ACS; ("s.c.")	$\lambda_{\max} 240,0 \text{ nm } A=0,515$ $\lambda_{\max}=357,6 \text{ nm } A=0,694$									

Tableau III.19

	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\min} (nm)	λ_{\min} (nm)
ACD / éthanol	204,8	0,906	252,8	0,869	272,8	0,845	323,2	0,533	227,2	299,2
Fe ³⁺ +ACD/ éthanol; ("s.d.")	205,6	0,705	255,2	0,553	272,8	0,534	320,0	0,280	227,2	299,2
Fe ³⁺ +ACD/ ACD; ("s.d.")	on obtient le spectre du Fe ³⁺									
Fe ³⁺ +ACD/ ACD; ("s.c.")	$\lambda = 240,0 \text{ nm} \quad A = 0,000$ $\lambda_{\max} = 362,0 \text{ nm} \quad A = 0.270$ $\lambda_{\max} = 300,0 \text{ nm} \quad A = 0,220$									

Tableau III.20

	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\max} (nm)	A_{\max}	λ_{\min} (nm)
DMC/ éthanol	216,8	0,565	216,8	0,622	292,8	0,773	319,2	0,935	258,4
Fe ³⁺ +DMC/ éthanol; ("s.d.")	216,8	0,750	216,8	0,796	292,8	0,927	319,2	1,119	258,4
Fe ³⁺ +DMC/ DMC; ("s. d.")	on obtient le spectre du Fe ³⁺								
Fe ³⁺ +DMC/ DMC; ("s.c.")	$\lambda_{\max}=256,8nm$ $A=0,780$ $\lambda_{\max}=359,5nm$ $A=0,698$								

Tableau III.21

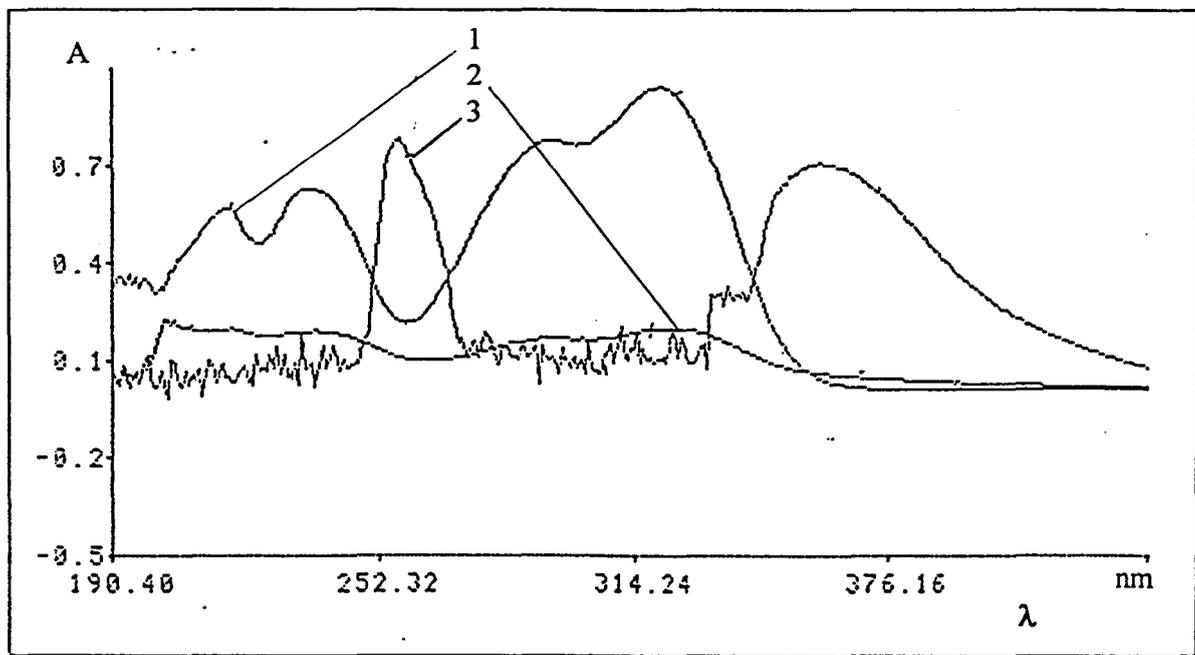


Figure III.46 Spectres UV :

- 1- DMC → Ethanol ("s.d.")
- 2- Fe^{3+} + DMC → DMC ("s.d.")
- 3- Fe^{3+} + DMC → DMC ("s.c.")

Conclusion

Dans les "conditions diluées" aucun de produits ne forme pas un complexe avec le Fe(III).

Par contre, dans les "conditions concentrées" il y a une interaction entre le Fe(III) et le système d'électrons de chaque produit. Ce fait est matérialisé par l'apparition des bandes d'absorption caractéristiques pour chaque système considéré.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Job, P. *Ann. Chim.*, 1928, 9, 113.
2. Peisach, J.; Blumberg, W.E. *Arch. Biochim. Biophys.* 1974, 165, 691.
3. Chao, Y.Y.H.; Kearns, D.R. *J. Phys. Chem* 1977, 81, 666.
4. Micera, G.; Deiana, S; Erre, L.; Piu, P.; Panzanelli, A. *J. Chem. Ed* 1984, 61, 646.
5. Palmer, G. N *Biochem. Soc. Trans.* 1985, 13, 548.
6. Kenani, A.; Bailly, C.; Helbecque, N., Catteau, J.P.; Houssian, R.; Bernier, J.L.; Henichard, J.P. *Biochem. J.* 1988, 253, 497.
7. Sugiura, Y.; Ishizu, K. *J. Inorg. Biochem.* 1979, 11, 171.
8. Pilbrow, J. R. *Transition Ion Electron Paramagnetic Resonance*, édit. Oxford University Press, New York 1990, 128.
9. Miyasaka, T *J. Chem. Soc. Perkin Trans II* 1987, 1543, 1549.
10. Sugiura, Y.; Mino, Y.; Ywashita, T.; Nomoto, K *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 4667.
11. Wilkins, R.G. *Chem. Soc. Reviews* 1992, 21, 171.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

L'ensemble des résultats décrits nous amène à formuler un certain nombre de remarques.

La synthèse de nouvelles molécules associant à la fois le motif de l'acide caféïque et celui prénylé a été envisagée. De telles molécules posséderaient une forte potentialité thérapeutique, pouvant intervenir dans la voie des lipoxgénases de la cascade arachidonique.

Malgré les efforts déployés, la synthèse de dérivés prénylés de l'acide caféïque est difficile à réaliser.

Nous avons obtenu de nouveaux composés, précurseurs dans la synthèse de l'acide caféïque prénylé et parmi eux la structure la plus intéressante est le PDC.

Les dérivés de l'acide cinnamique se comportent en solution comme des acides faibles. La déprotonation de ces molécules se fait en fonction de la nature de substituants du cycle aromatique. Bien qu'éloigné du site de déprotonation, le groupement prénylé exerce une influence sur l'acidité du PDC. Le PDC est un acide faible, mais plus fort que l'acide caféïque. Ce résultat est expliqué par une forte délocalisation d'électrons sur l'ensemble de la molécule.

Les valeurs de pK_a de l'ACD et de l'ACS mettent en évidence un comportement acido-basique différent. L'ACS est le plus fort parmi les composés considérés.

Tous les composés ont été étudiés par voltammétrie cyclique. Des voltammogrammes peu exploitables obtenus ne donnent pas beaucoup d'informations sur leur comportement rédox. Un fait est à mettre en évidence : les molécules sont stables à l'oxydation dans les conditions expérimentales utilisées.

L'étude de la lipophilie des trois acides : PDC, ACD, ACS met en évidence une forte hydrophobie de ces composés.

L'influence du groupement prénylé et des solvants sur l'allure du spectre UV-VISIBLE du PDC ont confirmé le fait qu'il existe une forte conjugaison dans cette molécule. Les bandes

caractéristiques du PDC sont à 223 nm et à 283 nm confirmées par des calculs de mécanique moléculaire.

Cette structure du PDC c'est avérée très intéressante pour ses propriétés complexantes. En effet nous avons démontré par une étude spectrométrique en UV-VISIBLE la formation de complexes entre le PDC et le Fe(III).

Fe : PDC = 1 : 1

Fe : PDC = 1 : 2

Fe : PDC = 2 : 3

Ce résultat met en évidence de nouveaux types de complexes. Ils ne se forment pas par l'intermédiaire du groupement carboxylique du PDC (comme on l'aurait pu croire, en tenant compte de la forte affinité du Fe^{3+} pour l'oxygène), mais par le système d'électrons π comprenant le motif cinnamique diméthoxylé et le substituent prényle.

Cette affirmation est soutenue par les arguments:

- dans des solutions aqueuses et éthanoliques on observe bien une grande différence entre les spectres du PDC en absence et en présence du Fe^{3+} même pour de très faibles concentrations.

- une résine échangeuse d'anions fortement basique de type DOWEX fixe le PDC. Le groupement carboxylique du PDC est fixé sur la résine et donc inactif pour une réaction de complexation. Le Fe^{3+} est néanmoins retenu sur une résine sur laquelle a été fixé du PDC.

- pour une solution éthanolique Fe^{3+} - PDC ($\sim 10^{-5}$ mole.L⁻¹) dans les conditions du complexe 2 : 3, on n'obtient pas de signal en RPE.

Le PDC se montre sélectif et sensible pour la complexation du Fe^{3+} .

Les autres cations étudiés : Mg(II), Co(II), Ni(II), Zn(II) ne forment pas de complexes avec le PDC, même à des concentrations plus grandes. Seul le Cu(II) c'est montré réactif dans

des solutions concentrées. L'étude par R.P.E. d'une solution Cu^{2+} et PDC ($\sim 10^{-4}$ mole.L $^{-1}$) nous a permis d'établir qu'il s'agit bien d'un complexe auquel le PDC participe avec son groupement carboxylique.

Les autres composés synthétisés ne complexent pas le Fe(III) dans des solutions diluées. Dans des solutions concentrées une interaction avec le Fe(III) est mise en évidence pour tous les produits. Seulement pour les aldéhydes prénylés l'allure des spectres des complexes est analogue à celle obtenu pour le complexe du PDC.

